

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

**MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES**

**COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN BIOPHYSIQUE ET EN BIOLOGIE CELLULAIRE**

**PAR
VIRGINIE BOUCHER**

**CARACTÉRISATION DES SYSTÈMES GABA-ERGIQUES CORTICAUX
CHEZ DEUX MODÈLES DE SOURIS AVEUGLES**

JANVIER 2009

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

« RESTE DEVANT LA PORTE SI TU VEUX QU'ON TE L'OUVRE. NE QUITTE
PAS LA VOIE SI TU VEUX QU'ON TE GUIDE. RIEN N'EST FERMÉ JAMAIS,
SINON À TES PROPRES YEUX. »

Attar Farid al-Din

AVANT PROPOS

En août 2004 prenait vie le projet d'une faculté de médecine décentralisée sur le campus de l'UQTR sous la gouverne de l'Université de Montréal. J'étais alors en dernière année du baccalauréat en biologie médicale à l'UQTR. En août 2005, je prenais moi-même part à la parade en allant rejoindre ces pionniers qui débutaient alors leur première année d'études médicales précliniques. J'ai été accueillie par les principaux dirigeants de la faculté de médecine de l'UdeM venus en Mauricie pour l'occasion. J'étais maintenant parmi les grands. Je ne m'y sentais pas à ma place, je ne croyais pas être à la hauteur, allant même jusqu'à prétexter une erreur du comité de sélection pour expliquer ma présence parmi eux! Plusieurs l'ont déjà vécu; le syndrome de l'imposteur. C'est à cet instant précis, alors que je croyais être au mauvais endroit au mauvais moment, que j'ai pris cette décision. Comme personne n'avait eu la chance de le faire avant moi, j'ai entrepris les démarches pour rendre possible une formation conjointe médecine-recherche à Trois-Rivières. Seule, je n'y serais jamais arrivé. Plusieurs personnes y ont cru et ont fait des pieds et des mains pour que le projet se concrétise.

Dans l'ordre, le Dr André Ferron de l'UdeM responsable de la formation conjointe MD-MSc, MD-PhD, Dr Rénauld Gareau de l'UQTR pour ces judicieux conseils et son encouragement, Dr Yves Berthiaume de l'UdeM pour son aide concernant le financement d'un tel projet. Mes directeurs Drs Gilles Bronchti et Denis Boire pour avoir accepté une étudiante avec un horaire plutôt capricieux, pour leur patience et leur travail acharné et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour. Le Dr. Pierre Tancrede de l'UQTR, à l'époque directeur du programme de maîtrise en biophysique et biologie cellulaires, pour avoir réussi à concilier mes deux horaires. Dr Pierre Gagné, vice doyen de la faculté de médecine de l'UdeM sur le campus Mauricie et clinicien au Centre Hospitalier Régional de Trois-Rivières (CHRT) pour son support, ses conseils et ses réponses à mes nombreuses questions. Tous ces grands noms n'agissent pas seuls bien entendu, ils font équipe avec de nombreuses adjointes, agentes et secrétaires. Monic Bourque, Stéphanie Abel, Chantal Baril, Denise Champoux, Nancy Roy, merci à vous pour tous les services que vous m'avez rendus.

Bien entendu, j'ai fait équipe avec des gens extraordinaires au labo. De bonnes amitiés se sont forgées, ce fut un plaisir de travailler avec vous tous. Nicole Chabot, elle a réponse à tout, c'est le pilier de cette équipe. Marie-Eve Laramée, d'abord stagiaire, elle m'a rendu de grands services à son arrivée au laboratoire. Ses efforts sont et seront récompensés, un brillant avenir l'attend. Robin Tremblay, une véritable encyclopédie des neurosciences, sa détermination est source d'inspiration. Sonia Guillemette, aimée de tous, toujours attentive, son calme et son sens de l'organisation la mèneront certainement plus loin qu'elle le croît et enfin Valérie Charbonneau dotée d'un talent sans pareil pour la chirurgie et choses bien faites. Tous ces étudiants en quête d'une maîtrise ou d'un doctorat ont eu, comme moi, la chance de travailler avec de précieux et nombreux stagiaires dont Karyne Arseneault, avec qui une précieuse amitié s'est créée.

Mon histoire ne peut se terminer sans nommer les personnes que j'aime le plus et qui seront toujours fiers de moi, peu importe ce qui arrivera. Valérie patiente, m'accepte comme je suis, elle est toujours là pour m'encourager. Dany toujours disponible et attentif, il a su me faire sourire dans les moments le plus difficiles. Les moments passés avec les membres de ma famille m'ont été très précieux. Mes parents Huguette et Marc, mes sœurs et leurs conjoints Caroline et Éric, Véronique et Marco ainsi que mon neveu Antoine et ma filleule Ariane. À tous ces gens formidables s'ajoutera bientôt un nouveau membre!

Maintenant tout près de la ligne d'arrivée, je dépose ce mémoire. Je terminerai également mon MD sous peu. Je suis à la croisée des chemins, le temps est venu pour moi de choisir quel grand docteur je serai plus tard, je tenterai ma chance en neurochirurgie. Choix influencé par ma maîtrise et les gens que j'ai côtoyés.

Je suis toujours habitée par ce sentiment de ne pas être à la hauteur, de ne pas avoir ce qu'il faut pour la neurochirurgie, toujours ce syndrome de l'imposteur. Donc si un jour vous doutez de vous-mêmes, foncez. Personne n'est ordinaire, on peut tous se dépasser.

RÉSUMÉ

De nombreuses études ont démontré chez les aveugles une utilisation des aires corticales occipitales, normalement visuelles, lors de tâches auditives ou tactiles. La perte de la vue modifie donc la spécificité de l'aire visuelle primaire chez ces personnes. Récemment, il a été proposé que ce phénomène soit dû à une moindre inhibition dans le cortex visuel qui démasquerait des connexions intercorticales normalement silencieuses. Il semblerait que la circuiterie GABAergique corticale soit dissemblable dans les différentes aires sensorielles primaires et dépend du type d'activité sensorielle qui parvient au cortex. De 90 à 95% des cellules GABAergiques corticales expriment des protéines chélatrices du calcium - parvalbumine, calbindine, calretinine - utilisées par ailleurs pour l'identification d'aires corticales. Des études ont démontré une diminution d'expression de la parvalbumine après une déprivation sensorielle et que la présence d'activité visuelle dans le cortex auditif primaire modifie la distribution et la morphologie des cellules exprimant la calbindine et la parvalbumine. Notre but est d'étudier le rôle que joue l'activité sensorielle sur le développement du système inhibiteur GABAergique à l'aide de deux modèles, la souris mutante anophtalmique qui possède une activité auditive et somesthésique dans le cortex visuel primaire et la souris énucléée sans activité démontrée dans ce cortex. Le système GABAergique cortical de ces animaux est comparé avec celui d'une souris normale. Nos résultats montrent que la cécité entraîne une diminution du volume de l'aire visuelle primaire. Chez la souris contrôle, les cortex primaires auditif et visuel peuvent être différenciés par leur patron d'expression de la calbindine et de la parvalbumine. En ce qui concerne la calbindine, ces différences disparaissent chez les deux modèles de souris aveugles et il semblerait que le cortex visuel ressemble au cortex auditif. Mais cela ne vaut que pour cette protéine. Le patron de la calrétinine est similaire dans le cortex auditif et visuel de la souris normale, mais ces cortex diffèrent chez les aveugles. Enfin, l'expression de la parvalbumine est semblable chez les souris contrôles et énucléées, mais est très différente chez la souris anophtalmique. Ainsi, la déprivation sensorielle et le type de modalité activant une aire corticale influenceraient la maturation et l'expression du système GABAergic cortical.

Mots clefs : cortex sensoriel; système inhibiteur; cécité; plasticité; souris

TABLE DES MATIÈRES

AVANT PROPOS	III
RÉSUMÉ.....	V
TABLE DES MATIÈRES	VI
LISTE DES TABLEAUX.....	IX
LISTE DES FIGURES	X
LISTE DES SYMBOLES ET ABRÉVIATIONS.....	XII
CHAPITRE 1.....	1
INTRODUCTION	1
1.1 Généralités sur le cortex cérébral.....	1
1.1.1. Architecture, lobes et aires corticales.....	1
1.1.2. Cytoarchitecture	4
1.1.3. Représentations corticales sensibles et leurs afférences.....	6
1.2 Développement et parcellisation du cortex cérébral	14
1.2.1 Généralités embryologiques	15
1.2.2 Rôles des facteurs intrinsèques et extrinsèques.....	15
1.2.3 Plasticité du système nerveux central.....	17
1.2.4 Notion de période critique	20
1.3 Généralités sur le système GABA-ergique cortical	21
1.3.1 Propriétés des interneurons.....	21
1.3.2 Organisation des circuits GABAergiques corticaux.....	24
1.3.3 Développement et maturation du système GABAergique	26
1.3.4 Effets de la déprivation sensorielle sur les champs récepteurs GABAergiques corticaux.....	28
1.4 Modèles animaux utilisés.....	29
1.4.1 Différences entre les 2 modèles de déprivation utilisés	30

1.4.2	Particularités de la souris ZRDCT/An.....	32
1.4.3	Les différents modes de déprivation sensorielle	32
1.5	Considérations méthodologiques	33
1.5.1	Immunohistochimie.....	33
1.5.2	Microscopie et analyse des résultats.....	33
1.5.3	Quantification stéréologique	34
1.6	Objectifs de la recherche.....	39
1.6.1	Objectifs spécifiques	40
1.6.2	Portée et originalité de la recherche	40
CHAPITRE 2	42
ARTICLE	42
Abstract	43
Keywords	43
Introduction	44
Material and methods	46
Animals and experimental group	46
Perfusion	46
Immunohistochemistry	47
Data analysis	48
Results	49
Volume and number of neurons in sensory cortices	49
Qualitative study of the distribution of the CBPs	52
Quantitative study of the distribution of the CBPs	60
Comparisons in the laminar distribution of the CBPs between V1 and AC	67
Results expressed by number of CBP-ir cells by total number of neurons	70
Discussion	72
Volume and number of neurons in sensory cortices	72

Qualitative study of the distribution of the CBPs	74
Quantitative study of the distribution of the CBPs	76
Comparisons in the laminar distribution of the CBPs between V1 and AC	77
Results expressed by number of CBP-ir cells by total number of neurons.....	79
Conclusion	79
Acknowledgements.....	80
CHAPITRE 3.....	81
DISCUSSION ET CONCLUSION.....	81
BIBLIOGRAPHIE.....	85

LISTE DES TABLEAUX

Table 2.1: Overview of stereological sampling for each cortical area.....	50
Table 2.2: Two-way ANOVA table of significance levels for group and cortical area effects on cortical volume and total number of neurons	51
Table 2.3 : Laminar distribution of the number of neurons immunoreactive for the different Calcium Binding Proteins (CBP)	62
Table 2.4 : Three-way ANOVA analysis of significance levels for area, layer and group effects on the distribution of number of CBP-ir neurons.....	63
Table 2.5 : P values for comparisons of V1 with other visual and auditory cortices.....	68
Table 2.6 : Two-way ANOVA analysis for the ratio number of CBP-ir cells by total number of neurons study.....	70

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : Les différents lobes du cortex cérébral.....	3
Figure 1.2 : Localisation des aires primaires chez l'homme et le rat.....	3
Figure 1.3 : Aires cytoarchitectoniques de Brodmann.....	5
Figure 1.4 : Cytoarchitecture des aires associative, motrice et visuelle primaire	5
Figure 1.5 : Colonne verticale.....	8
Figure 1.6 : Les voies visuelles	9
Figure 1.7 : Colonnes de dominance oculaire du CGLd et du cortex strié	9
Figure 1.8 : Les voies auditives	11
Figure 1.9 : Les voies somesthésiques	13
Figure 1.10 : L'homonculus.....	13
Figure 1.11 : Le champ de tonneaux des rongeurs.....	14
Figure 1.12 : Diversité morphologique des interneurons corticaux.	22
Figure 1.13 : Organisation des circuits GABAergiques corticaux.....	26
Figure 1.14 : Schéma des connexions des modèles animaux.....	30
Figure 1.15 : Cerveaux des modèles animaux utilisés	31
Figure 1.16 : L'échantillonnage aléatoire systématique	35
Figure 1.17 : Surestimation du nombre de cellules lors de l'échantillonnage	35
Figure 1.18 : Dissecteur optique	37
Figure 1.19 : Coloration de Nissl au crésyl violet.....	39
Figure 2.1 : Histograms of the distribution of the estimated total number of neurons and cortical volumes in the auditory and visual cortices	51
Figure 2.2 : Laminar distribution of Parvabumin-immunoreactive (PV-ir) neurons in the primary visual cortex (V1) and the primary auditory cortex (AC) in the three animal groups.....	53
Figure 2.3 : Laminar distribution of Parvabumin-immunoreactive (PV-ir) neurons in the lateral (V2L) and the medial (V2M) secondary visual cortices in the three animal groups	54

Figure 2.4 : Laminar distribution of Calbindin-immunoreactive (CB-ir) neurons in the primary visual cortex (V1) and the primary auditory cortex (AC) in the three animal groups.....	55
Figure 2.5 : Laminar distribution of Calbindin-immunoreactive (CB-ir) neurons in the lateral (V2L) and the medial (V2M) secondary visual cortices in the three animal groups	56
Figure 2.6 : Laminar distribution of Calretinin-immunoreactive (CR-ir) neurons in the primary visual cortex (V1) and the primary auditory cortex (AC) in the three animal groups.....	57
Figure 2.7 : Laminar distribution of Calretinin-immunoreactive (CR-ir) neurons in the lateral (V2L) and the medial (V2M) secondary visual cortices in the three animal groups	58
Figure 2.8 : Immunostaining for the Calcium Binding Proteins (CBP) in the lateral geniculate nucleus (LGN) in the three animal groups	59
Figure 2.9 : Laminar distribution of Parvalbumin (PV-ir) neurons in the three animal groups.....	64
Figure 2.10 : Laminar distribution of Calbindin (CB-ir) neurons in the three animal groups.....	65
Figure 2.11 : Laminar distribution of Calretinin (CR-ir) neurons in the three animal groups.....	66
Figure 2.12 : Comparisons between the primary visual cortex (V1) and the primary auditory cortex (AC)	69
Figure 2.13 : Ratios of Calcium binding Proteins immunoreactive neurons (CBP-ir) by the total number of neurons in the three animal groups.....	71
Figure 3.1 : Cytoarchitecture de l'aire visuelle primaire (V1) chez les trois modèles animaux.....	82

LISTE DES SYMBOLES ET ABRÉVIATIONS

AC	Aire auditive primaire
E	Jour embryonnaire
CCK	Cholécystokinine
CE	Coefficient d'erreur de Gundersen
CGL	Corps géniculé latéral dorsal
CGM	Corps géniculé médian
CGMd	Corps géniculé médian dorsal
CGMv	Corps géniculé médian ventral
CB	Calbindine
CBP	Calcium binding protein
CI	Collicule inférieur
CR	Calrétinine
CS	Collicule supérieur
<i>d</i>	Dorsal
GABA	Acide gamma-amino butyrique
GHIH	Growth hormone inhibiting hormone
IC	Inferior colliculus
-ir	Immunoreactive
LP	Noyau latéral postérieur
LGN	lateral geniculate nucleus
LGNd	dorsal lateral geniculate nucleus
LGNv	ventral lateral geniculate nucleus
NPY	Neuropeptide Y
MGN	Medial geniculate nucleus
P	Jour postnatal
PBS	Phosphate buffered saline
PV	Parvalbumine
S1	Aire somatosensorielle primaire
SC	Superior colliculus

SEM	Standard Error of the Mean
VIP	Peptide intestinal vasoactif
v	Ventral
V1	Aire visuelle primaire
V2	Aires visuelles secondaires
V2L	Aire visuelle secondaire latérale
V2M	Aire visuelle secondaire médiale

CHAPITRE 1

INTRODUCTION

1.1 Généralités sur le cortex cérébral

Le cortex cérébral constitue le centre d'intégration du système nerveux central. En effet, il est la destination de toute l'information sensorielle provenant de la périphérie ainsi que le point de départ des influx moteurs volontaires. On lui attribue également une panoplie de fonctions allant du traitement d'information sensorielle, telle la localisation d'un stimulus douloureux, jusqu'aux fonctions cognitives comme la compréhension du langage, l'idéation et l'imagination.

1.1.1. Architecture, lobes et aires corticales

Ce centre d'intégration, afin de s'acquitter de ses fonctions, est constitué de régions spécialisées bien définies. Globalement, on note cinq différents lobes séparés par des sillons (figure 1.1). Le lobe frontal prend en charge la majorité des fonctions motrices. Il est responsable de certaines fonctions cognitives dont le comportement, les réponses aux émotions ou encore la planification. Il contribue donc à définir la personnalité d'un individu. De plus, il constitue une partie de ce qu'on appelle les aires associatives. C'est la panoplie de fonctions qui leur sont attribuées qui distingue l'humain des autres mammifères. En effet, lorsque l'on compare schématiquement la taille d'un cortex entre un homme et un rat (figure 1.2), on remarque rapidement que chez l'homme, les aires associatives occupent une grande surface corticale alors que chez le rat, l'écorce corticale est surtout dédiée aux aires sensorielles et motrices primaires. Le lobe temporal participe également aux fonctions cognitives, telles la compréhension du langage et la reconnaissance de stimuli complexes comme les visages, les objets etc. Il est également le siège des aires auditives primaire et secondaires.

Le lobe pariétal comprend l'aire somatosensorielle primaire. Il possède également des fonctions associatives puisqu'il est le siège de l'attention visuo-spatiale, c'est-à-dire la capacité de percevoir son corps ou les objets en relation avec son propre corps et d'y prêter attention. Le lobe occipital est essentiellement sensitif et constitué des aires visuelles primaires et secondaires. Enfin, enfoui tout au fond du sillon latéral, se trouve le lobe de l'insula. Il est en fait un cortex limbique donc principalement impliqué dans les émotions et la douleur.

Tel que mentionné, on retrouve au sein des différents cortex des aires sensorielles dites primaires et secondaires. Les aires sensorielles primaires reçoivent l'information en provenance de la périphérie sensorielle via le thalamus et se chargent de la perception c'est-à-dire les formes, les mouvements, l'intensité etc. Leur localisation est illustrée à la figure 1.2. Ces aires primaires relaient ensuite l'information vers des aires sensorielles secondaires qui traitent les informations plus complexes comme par exemple la perception spatiale, la reconnaissance ou la vitesse du mouvement. Ces dernières retournent l'information sensorielle vers les aires primaires par des connections dites en « feedback ».

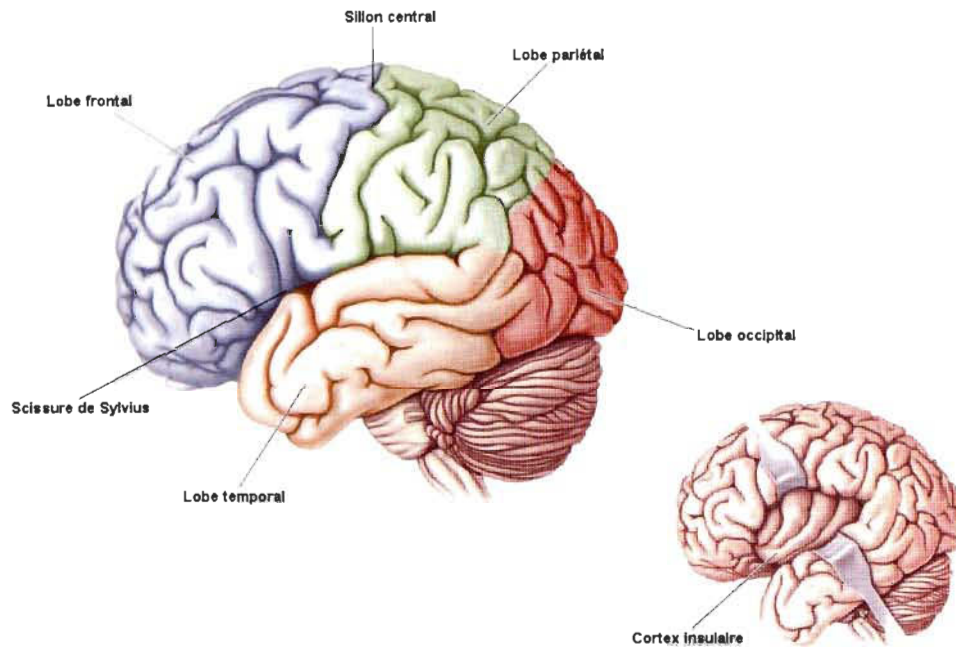


Figure 1.1 : Les différents lobes du cortex cérébral.

Le cortex cérébral de l'homme est constitué de 5 lobes séparés par des sillons (Bear MF et al., 2002).

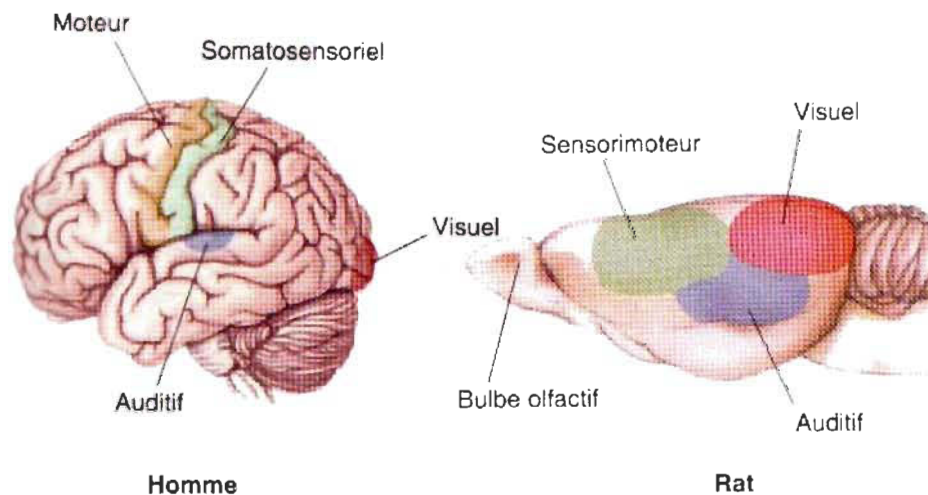


Figure 1.2 : Localisation des aires primaires chez l'homme et le rat

Les aires sensorielles et motrices primaires sont situées à des endroits semblables mais n'occupent pas proportionnellement la même surface corticale chez l'homme et chez le rat (Bear MF et al., 2002).

1.1.2. Cytoarchitecture

Chez l'humain, la distribution laminaire des cellules qui constituent l'ensemble du cortex cérébral parcellise celui-ci en 52 aires différentes décrites par Brodmann. Cette carte cytoarchitectonique est illustrée à la figure 1.3. Chez les mammifères, la majorité du cortex cérébral est constitué de néocortex, c'est-à-dire composé de six couches cellulaires distinctes. La couche I, juste sous la pie-mère, est dite moléculaire puisqu'elle est hypocellulaire. Elle contient les axones et les dendrites des cellules provenant des couches profondes. Les couches II et III sont appelées petites et moyennes pyramidales. Comme leur nom l'indique, elles contiennent des neurones pyramidaux excitateurs de petite taille destinés aux projections calleuses ainsi que cortico-corticales. La couche IV, granulaire, a une fonction réceptrice. Ses petites cellules étoilées reçoivent des influx majoritairement en provenance du thalamus. Facilement reconnaissables, ces cellules ont un petit corps cellulaire, une arborisation dendritique restreinte ainsi qu'une projection axonale de courte distance. Leur rôle principal est de transmettre l'information sensorielle afférente aux neurones corticaux avoisinants ainsi qu'à ceux des couches II et III. La couche V contient de gros neurones pyramidaux destinés aux projections sous-corticales dont le thalamus, les collicules supérieurs et inférieurs, les noyaux gris centraux, le tronc cérébral et la moelle épinière. De cette couche part aussi des projections corticales calleuses. Enfin, la couche VI appelée couche polymorphique, projette quant à elle vers le thalamus. La densité cellulaire et la taille relative de chacune de ces six couches dépendent de la fonction de l'aire corticale. Ainsi, un cortex de type moteur aura une couche V fortement développée puisque celle-ci envoie des efférences aux motoneurones au niveau du tronc cérébral ou de la moelle épinière pour contrôler les mouvements. Dans un cortex sensoriel, on retrouvera plutôt une couche IV très dense puisqu'elle reçoit les influx sensoriels provenant du thalamus. Dans les cortex dits associatifs, on retrouve une structure intermédiaire entre ces deux types de cortex (figure 1.4) (Bear MF et al., 2002; Blumenfeld, 2002).

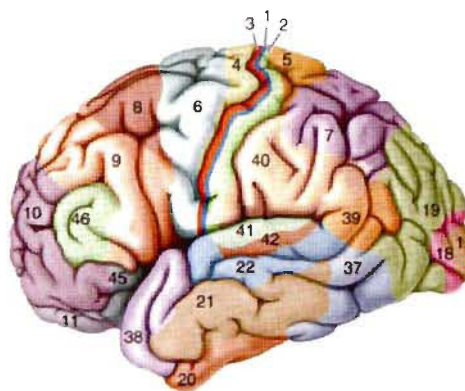


Figure 1.3 : Aires cytoarchitectoniques de Brodmann

La totalité du cortex cérébral est divisé par la cytoarchitecture en 52 aires (Bear MF et al., 2002).

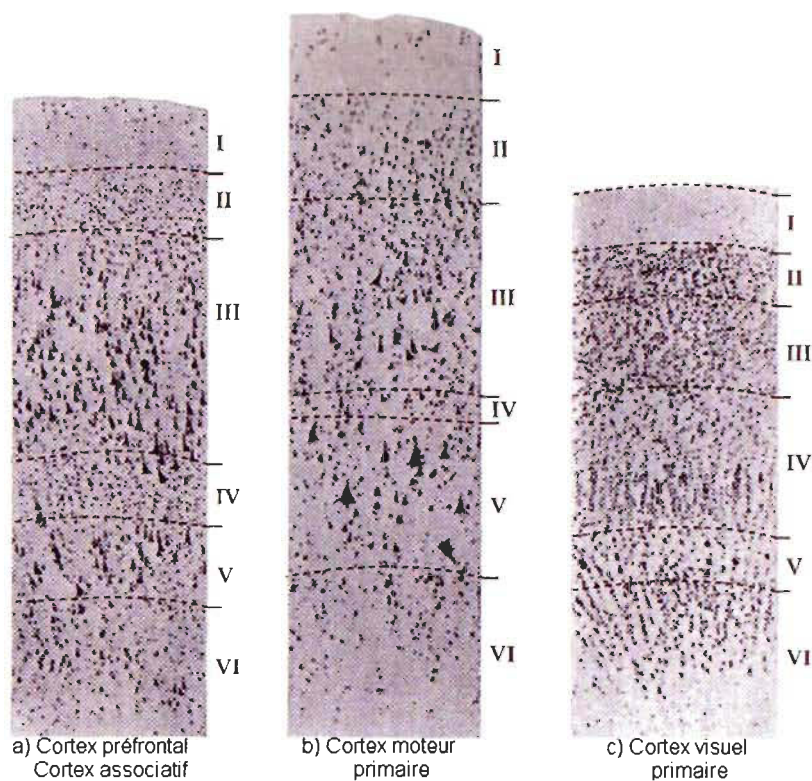


Figure 1.4 : Cytoarchitecture des aires associative, motrice et visuelle primaire

L'épaisseur de chaque couche corticale varie selon la fonction de l'aire corticale (Adapté de Blumenfeld, 2002).

1.1.3. Représentations corticales sensibles et leurs afférences

Tous les systèmes sensoriels ont une représentation topographique de leur organe réceptif au niveau de leur aire sensorielle corticale. Cette dernière se trouve au niveau de la couche IV du cortex sensoriel primaire. Il existe au niveau des cortex sensoriels primaires des unités de traitement de l'information qui s'étendent aux six couches corticales nommées colonnes verticales. Les afférences provenant de la périphérie projettent des axones sur les cellules granulaires de la couche IV réceptrice qui ensuite transfèrent cette information sensorielle vers les couches corticales supérieures. Ces connexions sont appelées connexions radiales. De là, les neurones pyramidaux des couches II et III transmettent cette information aux colonnes avoisinantes par des connexions horizontales ou encore dans une autre aire corticale par des connexions cortico-corticales. Ils transmettent également cette information aux dendrites apicales des neurones pyramidaux de la couche V et VI. Ces derniers retransmettent cette information vers des structures sous-corticales dont le collicule supérieur (CS) et le pont. Quant aux cellules de la couche VI, elles retournent l'information sensorielle vers le thalamus. Chacune de ces colonnes représente une unité fonctionnelle. Il est donc aisé d'imaginer que chacune de ces colonnes soit dédiée soit à un champ rétinien, une tonalité ou encore une partie du corps.

Le système visuel

L'information visuelle de la rétine est transmise par le nerf optique qui contient les axones des cellules ganglionnaires jusqu'au chiasma au niveau duquel, chez l'homme, les fibres provenant de la rétine nasale croisent le plan médian pour se retrouver du côté controlatéral alors que celles provenant de la rétine temporale voyagent ipsilatéralement. Chez la souris, dont la position latérale des yeux a conduit au développement d'une importante rétine nasale aux dépens d'une petite rétine temporale, la majorité des fibres traversent du côté controlatéral au niveau des collicules supérieurs. Au-delà du chiasma, les voies visuelles se poursuivent par les tractus optiques pour atteindre leur relais thalamique, le corps géniculé latéral dorsal (CGLd). Quelques fibres du tractus optique

évitent cependant le CGLd. Leurs principales destinations sont l'hypothalamus pour la régulation du rythme circadien, le prétectum pour le contrôle de la pupille et enfin le CS pour le contrôle de l'orientation oculaire. La majorité des afférences atteignant le CGLd font synapse sur des neurones qui à leur tour cheminent par les radiations optiques pour atteindre la couche IV de l'aire visuelle primaire nommée cortex strié ou aire 17 de Brodmann (figure 1.6). Il existe, parallèlement, des fibres qui gagnent le noyau thalamique latéral postérieur (LP) pour ensuite atteindre les aires visuelles secondaires (V2) ou cortex extrastrié.

Chez les primates, le cortex visuel primaire se retrouve au pourtour de la scissure calcarine dans le cortex occipital. On retrouve au niveau de la couche IV du cortex strié une rétinotopie, c'est-à-dire que des cellules corticales voisines reçoivent les informations issues de régions voisines de la rétine. Cependant, le nombre de neurones corticaux recevant l'information de la partie centrale de la rétine est beaucoup plus élevé que celui recevant en provenance des régions périphériques. De plus, on y retrouve une disposition des colonnes verticales particulière. En effet, on retrouve en alternance des colonnes dédiées à l'œil droit et celles liées à l'œil gauche. Cette disposition est appelée colonnes de dominance oculaire (figure 1.7) (Bear MF et al., 2002; Blumenfeld, 2002).

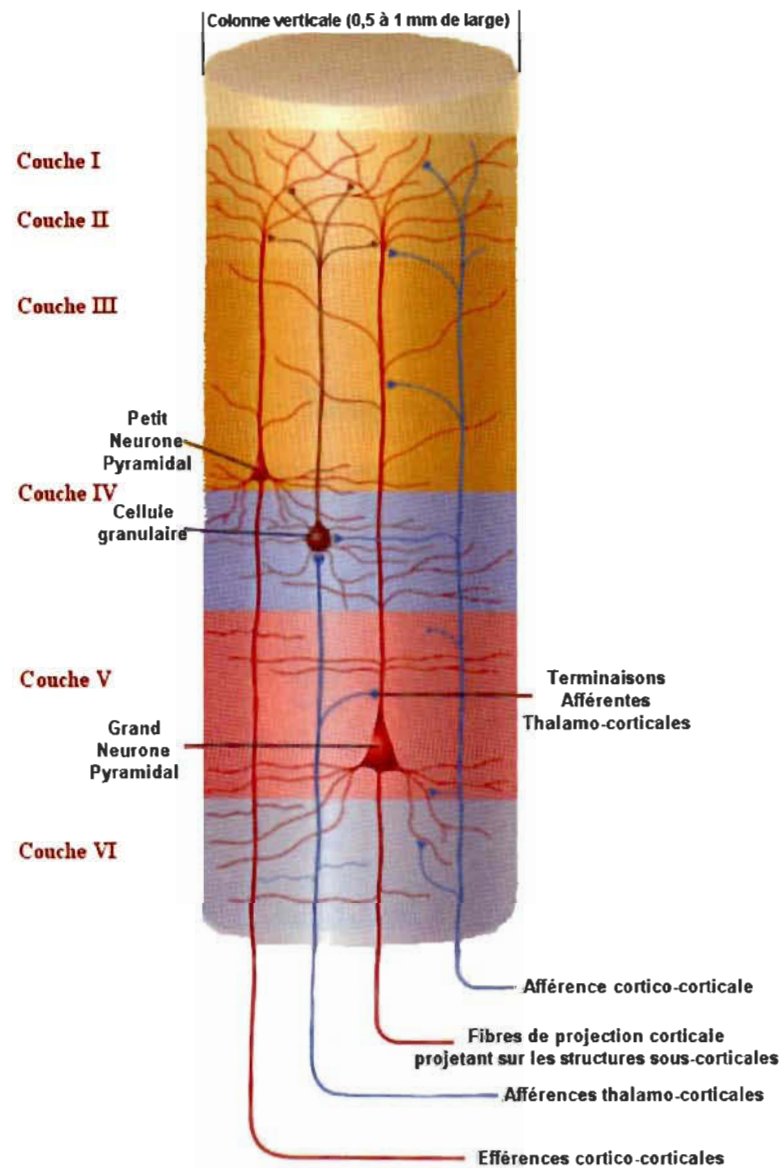


Figure 1.5 : Colonne verticale

Les colonnes verticales traitent l'information provenant du thalamus et redirige cette dernière vers les couches supérieures ou vers d'autres aires corticales (Adapté de Felten DL and Józefowicz RF, 2003).

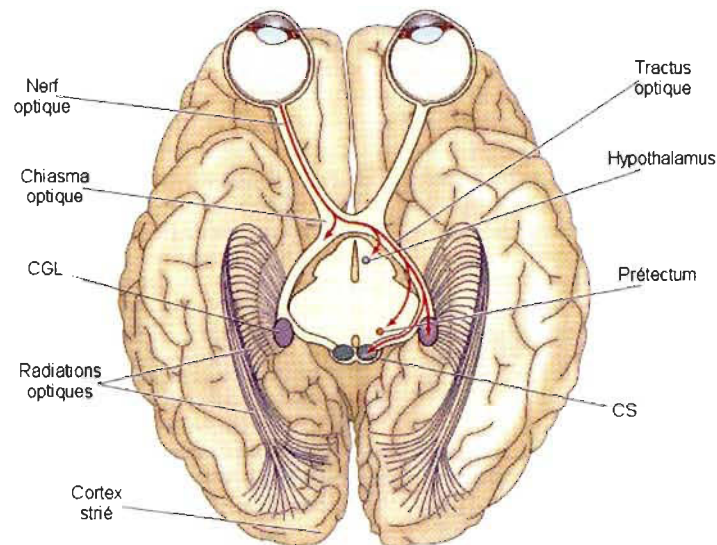


Figure 1.6 : Les voies visuelles

L'information sensorielle reçue par la rétine atteint le cortex occipital après au relai au thalamus : le CGLd (Purves et al., 2003).

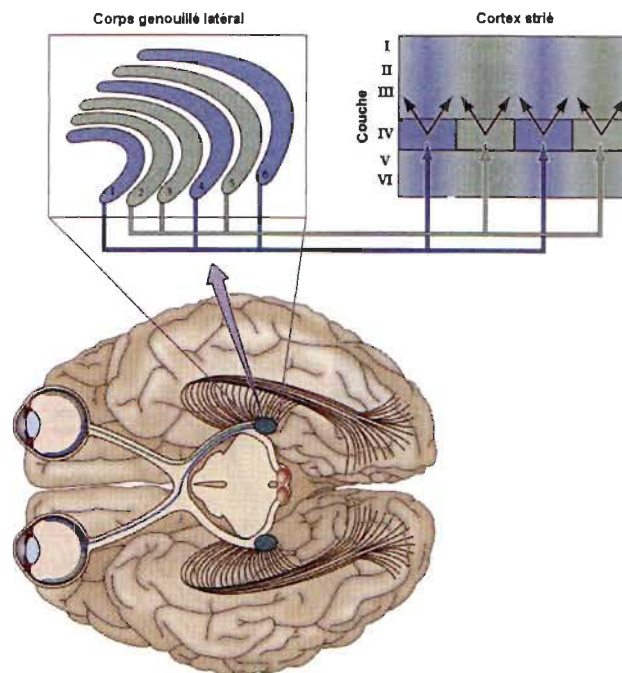


Figure 1.7 : Colonnes de dominance oculaire du CGLd et du cortex strié

On retrouve, au niveau du CGLd comme du cortex strié une alternance de cellules dédiées à l'œil droit et de cellules dédiées à l'œil gauche (Purves et al., 2003).

Le système auditif

Les voies auditives cheminent par une voie semblable mais avec plus de relais que la vision. L'information sensorielle est transmise par les cellules ciliées de l'organe de Corti et chemine par la partie acoustique du nerf cochléovestibulaire. L'information sensorielle est acheminée dans le tronc cérébral pour se rendre dans les noyaux cochléaires ventral et dorsal. Un deuxième neurone transporte les afférences auditives vers l'olive supérieure contra- (80% des fibres) et ipsilatérale (20% des fibres). L'information chemine ensuite par le lemnisque latéral pour atteindre le collicule inférieur (CI). Ce noyau, majoritairement auditif, est la source d'afférences du noyau thalamique auditif, le corps géniculé médian ventral (CGMv). De là, l'information rejoint le cortex auditif primaire (AC) dans le lobe temporal ipsilatéral. Il existe, parallèlement, des fibres qui gagnent le CGMd pour atteindre ensuite les aires auditives secondaires. Tout comme dans le système visuel, l'information atteint la couche IV du cortex primaire. On y retrouve une représentation tonotopique correspondant aux sections répondant à une tonalité particulière au niveau de la cochlée (figure 1.8) (Bear MF et al., 2002; Blumenfeld, 2002).

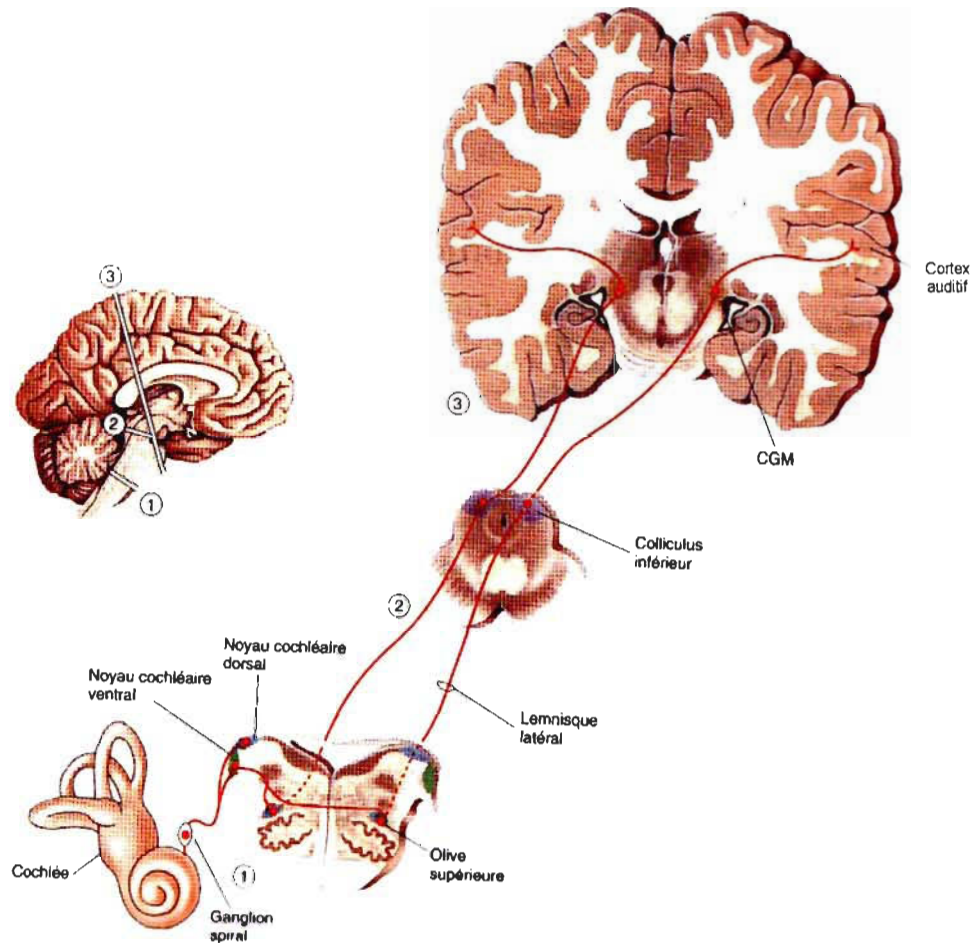


Figure 1.8 : Les voies auditives

L'information sensorielle en provenance de la cochlée est transmise au cortex temporal après un relai dans le noyau auditif du thalamus; le CGM (Bear MF et al., 2002).

Le système somesthésique

Enfin, le système somesthésique utilise des voies semblables aux autres modalités. Il existe cependant trois voies afférentes selon que l'information sensorielle soit de nature douloureuse (la voie nociceptive), de nature fine et discriminatoire (la voie épicrotique) ou finalement, si l'information provient de la face (la voie trigéminal). Il existe de plus une voie parallèle intéressant les influx sensoriels plus grossiers qui est la voie protopatique. Le système somesthésique répond à un ensemble de stimuli par de

nombreux types de récepteurs différents au niveau de la peau, des articulations, des muscles ou encore associés aux poils. Dans la voie épicritique, l'influx nerveux chemine par la corne dorsale de la moelle épinière. Les influx montent par les cordons postérieurs jusqu'au niveau de la moelle allongée où a lieu une première synapse dans les noyaux gracile ou cunéiforme. Le second neurone décusse et atteint le relais thalamique somatosensoriel, le noyau ventral postérieur latéral (information sensorielle provenant du corps) ou le noyau ventral postérieur médian (information sensorielle provenant de la face). Enfin un troisième neurone traverse la capsule interne et atteint l'aire somatosensorielle primaire (S1) située juste derrière le sillon central. Ainsi, l'information sensorielle qui parvient au cortex correspond au côté contralatéral du corps ou de la face (figure 1.9). Certaines régions, particulièrement les mains, nécessitent qu'un plus grand nombre de neurones leur soit dédiés pour accomplir leurs tâches discriminatoires fines. La proportion que représentent les différentes parties du corps au niveau cortical est illustrée par l'homunculus (figure 1.10) (Bear MF et al., 2002; Blumenfeld, 2002).

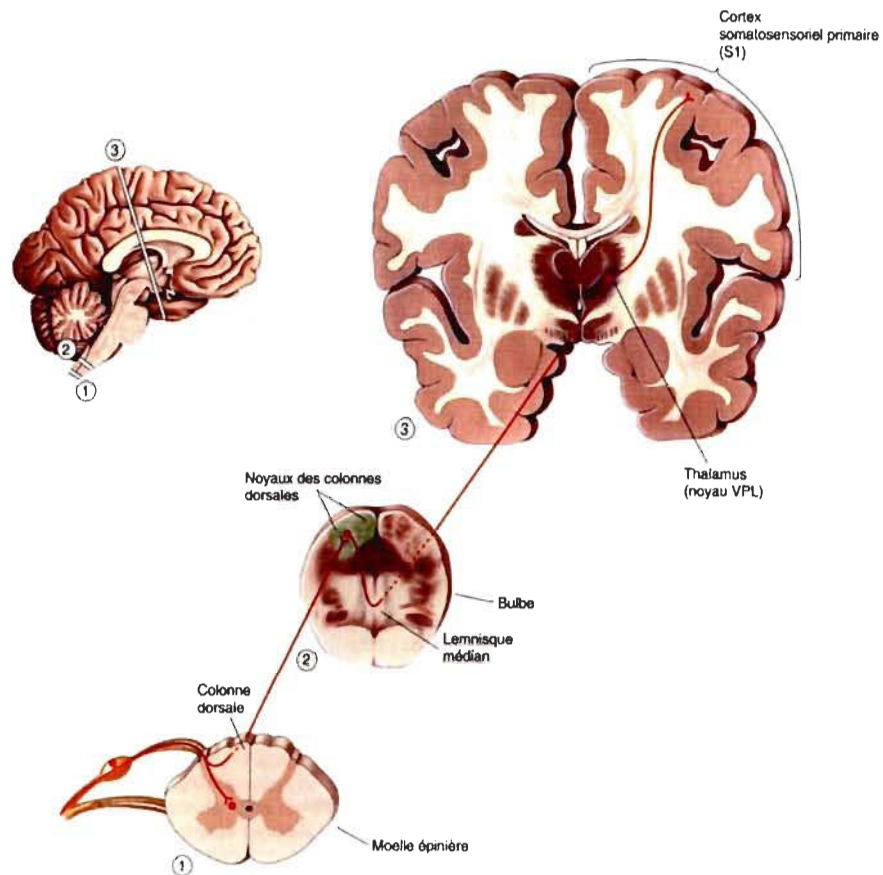


Figure 1.9 : Les voies somesthésiques

L'information sensorielle en provenance de la périphérie est transmise au cortex pariétal après un relai dans le noyau somesthésique du thalamus; le noyau ventral postérieur (Bear MF et al., 2002).



Figure 1.10 : L'homunculus

L'espace cortical dédié à une partie du corps est proportionnel à la densité de son innervation donc, à son acuité (Bear MF et al., 2002).

Chez la souris, on retrouve une représentation corticale des vibrisses appelée champs de tonneaux. Chez ces animaux, les vibrisses sont utilisées pour l'exploration de l'environnement et leur représentation corticale est très développée. On retrouve en effet au niveau de la couche IV du cortex somatosensoriel une représentation exacte de la disposition des vibrisses sur le museau de l'animal (figure 1.11) (Bear MF et al., 2002).

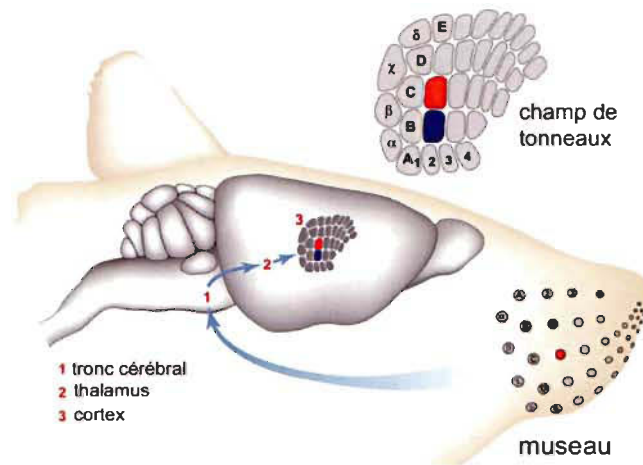


Figure 1.11 : Le champ de tonneaux des rongeurs

On retrouve chez les rongeurs une représentation de la disposition des vibrisses au niveau de la couche IV du cortex somatosensoriel. Noter la taille relative de cette représentation sur le cortex qui démontre son importance pour le rongeur (Knot, G.W. (Non-publié).

1.2 Développement et parcellisation du cortex cérébral

Le tube neural provenant de l'ectoderme est l'ébauche qui donnera naissance à tout le système nerveux central. D'abord un simple tube dont la lumière deviendra le système ventriculaire, il se différenciera en trois vésicules primordiales dont la plus antérieure, le prosencéphale, donnera le télencéphale, soit les hémisphères cérébraux, et le diencéphale, qui contient, entre autre, le thalamus.

1.2.1 Généralités embryologiques

La paroi du télencéphale embryonnaire est constituée de deux régions nommées la zone marginale, située sous la pie mère, et la zone ventriculaire qui tapisse l'intérieur du système ventriculaire. Cette dernière donnera naissance aux neurones corticaux. Les cellules pyramidales ainsi que les astrocytes proviendront de cellules souches neurales retrouvées dans la zone ventriculaire du télencéphale dorsal tandis que les cellules GABAergiques et les oligodendrocytes proviendront de la zone ventriculaire du télencéphale ventral. Les cellules filles produites migreront en direction de la surface piaie. Ces cellules encore non différenciées formeront d'abord une couche cellulaire nommée sous-plaque corticale. Les cellules dont elle est constituée formeront, dans l'ordre, les couches I, VI, V, IV, III, et enfin II, chacune traversant les couches préalablement formées. Elles migreront en suivant la glie radiaire vers leur position adulte. Chez l'homme, la plupart des neurones du néocortex sont formés entre la cinquième semaine et le cinquième mois de gestation. Chez la souris, la neurogenèse corticale se termine juste avant la naissance soit environ 18 jours suivant la conception (Clancy et al., 2007). Lorsque tous les neurones primitifs, aussi appelés neuroblastes, sont produits, ils doivent passer à travers la différenciation cellulaire à la suite de quoi ils acquerront leur identité. Cette dernière, déterminée par leur morphologie, leur contenu en neurotransmetteurs, leurs molécules de surface et les types de synapses qu'elles forment ou qu'elles reçoivent, conduira une vaste variété de cellules aux propriétés et aux fonctions différentes. Quand et comment les neurones acquièrent leur phénotype adulte sont des questions très controversées (Bear MF et al., 2002).

1.2.2 Rôles des facteurs intrinsèques et extrinsèques

La morphologie, l'arborisation dendritique, la portée axonale et enfin tout l'arsenal moléculaire que produit le neurone sont sous le contrôle de l'expression génique. Ce sont les facteurs intrinsèques. Quant au raffinement des connections exercées par et sur le neurone, il est plutôt sous l'influence de l'activité afférente ou de molécules de

guidance produites localement par les cellules environnantes. Ces derniers portent le nom de facteurs extrinsèques. C'est l'ensemble de ces facteurs, intrinsèques et extrinsèques, qui conduisent à la parcellisation et à la spécification du cortex cérébral en aires structurellement et fonctionnellement distinctes.

L'implication des facteurs intrinsèques a été démontrée alors que, même avant l'arrivée des inputs thalamo-corticaux, des régions corticales se distinguent par l'expression différentielle de certains gènes (Rubenstein et al., 1999; Wilson and Rubenstein, 2000). Les axones thalamiques gagnent la couche IV corticale au jour post-natal (P) 3 chez le hamster et le rat, P1 chez la souris, P14 chez le furet, jour embryonnaire (E) 56 chez le chat, E91 chez le macaque et E130 chez l'humain. (Erzurumlu and Jhaveri, 1992; Issa et al., 1999; Clancy et al., 2007) Des souris mutantes dont les afférences thalamo-corticales sont absentes, présentent également des régions corticales distinctes avant la naissance (Miyashita-Lin et al., 1999; Nakagawa et al., 1999). Ceci suggère que l'effet des facteurs intrinsèques est suffisant pour entraîner une régionalisation corticale, du moins au niveau de l'expression de familles de gènes (Pallas, 2001). Huffman et ses collègues ont démontré, par un travail original, que les facteurs intrinsèques ne peuvent à eux seuls expliquer la parcellisation du cortex. En effet, en faisant l'ablation du tiers postérieur du cortex cérébral de marsupiaux à P0, alors que celui-ci n'est pas encore défini en aires, ils ont constaté que, malgré une écorce corticale réduite, une carte corticale contenant les aires S1, AC et V1, était tout de même présente et que la taille et la position relative de chacune des ces aires sensorielles étaient conservées. Des fibres provenant des noyaux thalamiques correspondants innervaient également ces « nouvelles » aires sensorielles malgré leur position ectopique (Huffman et al., 1999). Ceci montre que, malgré une conservation de la taille et de la position relative de chacune des modalités sensorielles, un cortex peut prendre une identité autre que celle qui lui était normalement destinée. Ces expériences montrent que l'expression génique ne peut à elle seule expliquer la parcellisation corticale sans toutefois déterminer l'importance relative des facteurs intrinsèques et extrinsèques. Cependant, ils mettent en évidence le rôle crucial joué par les afférences thalamo-corticales.

Les facteurs intrinsèques ont donc un rôle permissif puisqu'ils permettent la mise en place de l'architecture de base du cortex alors que les facteurs extrinsèques, quant à eux, ont un rôle instructif, c'est-à-dire qu'ils influencent la mise en place et la stabilisation des connexions cortico-corticales, calleuses et corticofuges, forgeant ainsi l'identité corticale. Cette évidence a été clairement démontrée par Schlaggar et O'Leary alors que ces derniers ont retiré le cortex pariétal de rats à P0 et l'on remplacé par un morceau d'écorce occipitale prélevé chez le même animal. Ils ont remarqué que non seulement les fibres thalamiques en provenance du noyau ventral postérieur, de nature somatosensorielle, atteignent la couche IV de ce nouveau cortex pariétal mais que l'écorce occipitale prenait l'aspect d'un champ de tonneaux, caractéristique d'un cortex somatosensoriel (Schlaggar and O'Leary, 1991). Des expériences ont également démontré l'importance de l'information sensorielle afférente dans le maintien des structures corticales comme par exemple dans le système visuel. En effet, l'information visuelle en provenance de chacun des yeux est nécessaire pour le maintien des colonnes de dominance oculaire chez le chat (Hubel and Wiesel, 1963). Ces exemples démontrent l'influence des afférences sensorielles sur l'organisation corticale. Cette capacité d'adaptation du système nerveux central est nécessaire au développement cortical. Ainsi, les connexions qui s'établissent au cours du développement ne sont pas statiques mais plutôt malléables, ce qu'on appelle la plasticité cérébrale.

1.2.3 Plasticité du système nerveux central

Des changements à l'intérieur du système nerveux central peuvent survenir à différents niveaux. Il peut s'agir de potentialisation ou de dépression d'une synapse, d'une diminution ou une augmentation du nombre de boutons synaptiques ou encore de rétraction ou d'expansion axonale. Ces changements conduisent à des modifications fonctionnelles. De telles modifications peuvent également survenir au niveau d'un faisceau de fibres. On parle alors de modifications anatomo-fonctionnelles. Ces changements surviennent de manière normale au cours du développement du système nerveux ou encore lors de l'apprentissage. Ils peuvent également faire suite à une lésion ou encore à une déprivation, la perte d'un organe sensoriel ou refléter une anomalie

congénitale. La cécité, la surdité ou encore la syndactylie sont quelques exemples de déprivations sensorielles naturelles entraînant des modifications anatomo-fonctionnelles dans le système nerveux central et dans les écorces sensorielles primaires.

Dans les cas de syndactylie, les cartes corticales représentant chacun des doigts se trouvent superposées. À la suite séparation chirurgicale des doigts, on observe alors une carte somesthésique où chaque doigt y est représenté distinctement (Mogilner et al., 1993). L'inverse est également possible : si on coupe un doigt chez un singe-hibou (*Aotus trivirgatus*), on remarque que, deux mois plus tard, l'espace cortical dédié à celui-ci est repris par les doigts adjacents (Merzenich et al., 1984). Ces compensations sensorielles s'opèrent à l'intérieur d'une même modalité d'où leur qualificatif d'intramodales.

Des changements peuvent également survenir entre les modalités sensorielles telles l'audition, la vision et la somesthésie. Leurs voies afférentes, telles que décrites antérieurement, cheminent séparément et font relai dans des noyaux différents. Des modifications anatomo-fonctionnelles peuvent survenir suite à une lésion ou une déprivation complète d'un sens. Ces compensations sont alors nommées intermodales. L'exemple classique est celui des aveugles qui utilisent leur cortex visuel lors de tâches auditives ou somesthésiques (Sadato et al., 1996; Cohen et al., 1997; Weeks et al., 2000; Wittenberg et al., 2004). Chez les individus sourds, des compensations intermodales se produisent alors que leur cortex auditif est recruté lors de tâches visuelles ou somesthésiques (Levanen et al., 1998; Finney et al., 2001).

Les modifications anatomiques qui accompagnent ces changements font l'objet d'intenses recherches. Trois mécanismes ont été proposés : des changements dans la connectivité sous-corticale, dans le rétrocontrôle cortico-cortical et dans la connectivité cortico-corticale entre les aires sensorielles primaires (Bavelier and Neville, 2002).

Des études de traçage neuronal ont mis en évidence, chez le rat taupe congénitalement aveugle, des connections entre le CI et le thalamus visuel menant à l'activation par des stimuli auditifs du cortex occipital non-dégénéré (Doron and Wollberg, 1994; Bronchti

et al., 2002). Ces mêmes résultats ont été retrouvés chez le hamster énucléé à la naissance (Izraeli et al., 2002) ainsi que chez la souris mutante anophtalmique ZRDCT/An (Piché et al., 2004; Chabot et al., 2007). Des cellules ganglionnaires rétiniennes peuvent également envahir le CGM suite à des manipulations chirurgicales chez le hamster (Schneider, 1973; Kalil and Schneider, 1975; Frost, 1981; Bhide and Frost, 1999), chez le furet (Sur et al., 1988; Roe et al., 1990) ainsi que chez la souris congénitalement sourde (Hunt et al., 2005). Cependant, de telles modifications anatomiques sous-corticales n'ont pas été étudiées chez l'humain.

Le rétro-contrôle cortico-cortical consiste en un retour de l'information sensorielle vers des aires sensorielles primaires provenant d'aires associatives multimodales. De telles connexions existent sans déprivation. En effet, des études de traçage chez le singe en ont démontré la présence (Rockland and Van Hoesen, 1994; Rockland and Ojima, 2003; Clavagnier et al., 2004). Des études d'imagerie chez l'humain ont aussi supposé la présence de connexions entre aires associatives et aires sensorielles primaires. Par exemple, de l'activité cérébrale a été retrouvée dans ces aires chez l'humain voyant (Pascual-Leone et al., 2001), l'aveugle précoce (Kujala et al., 1992; Alho et al., 1993; Liotti et al., 1998; Weeks et al., 2000) et l'aveugle tardif (Kujala et al., 1997; Buchel et al., 1998) suite à une tâche auditive ou tactile. De plus, certaines de ces études ont démontré que ces connexions peuvent être renforcées chez l'aveugle comparé au voyant (Liotti et al., 1998; Weeks et al., 2000).

Finalement, des connexions cortico-corticales de longue portée entre les aires sensorielles primaires ont été rapportées chez le chat (Hall and Lomber, 2008), le hamster énucléé (Izraeli et al., 2002), le primate (Falchier et al., 2002; Rockland and Ojima, 2003; Clavagnier et al., 2004; Cappe and Barone, 2005) et l'opossum énucléé (Karlen and Krubitzer, 2006). Cette dernière dégénérerait chez les individus sourds permettant ainsi une meilleure acuité visuelle en périphérie (Bavelier and Neville, 2002). Cette connexion serait cependant renforcée chez les aveugles lors du traitement d'information auditive. Celle-ci permettrait donc le recrutement de V1 inutilisé pour le traitement d'information visuelle (Roder et al., 2002). Récemment, une étude de traçage

a également révélé la présence d'une connexion réciproque de V1 vers AC chez le furet (Bizley et al., 2007).

1.2.4 Notion de période critique

Bien entendu, tous ces changements n'ont pas la même portée selon le moment où survient la perte sensorielle. La capacité d'adaptation est d'autant plus grande lorsqu'un individu est soumis à un tel changement en bas âge. Ainsi, plus tôt un individu subira la perte d'un sens, mieux s'effectuera son adaptation. Il existe, tant chez l'humain que chez les modèles animaux utilisés, différentes périodes critiques durant lesquelles l'expérience peut significativement altérer les performances comportementales de l'organisme et les aspects relatifs à la structure et/ou les fonctions du cerveau (Bavelier and Neville, 2002). Chacune des étapes de maturation possède sa propre période critique. Au-delà de ces périodes, lorsqu'elles existent, la plasticité du cerveau est limitée.

Plusieurs études ont porté sur l'implication de la perte de la vue précoce en opposition à la perte tardive. À partir de méthodes d'imagerie, on remarque que l'aveugle précoce, c'est-à-dire l'individu qui est aveugle de naissance ou qui a perdu la vision avant l'âge de 14 à 16 ans, active davantage son cortex occipital à la suite d'une stimulation du cortex somesthésique primaire qu'un individu ayant perdu la vue plus tardivement (Veraart et al., 1990; Cohen et al., 1999; Sadato et al., 2002; Burton et al., 2004; Wittenberg et al., 2004). Cette activation visuelle suite à une stimulation tactile pourrait être expliquée par trois mécanismes différents : 1) un démasquage de connexions intermodales préexistantes, 2) la formation de nouvelles connexions et 3) un renforcement des connexions déjà établies. Cette connexion cortico-corticale entre les cortex visuel et somesthésique serait ainsi renforcée en bas âge et permettrait une meilleure utilisation compensatoire du cortex visuel de l'aveugle précoce. Au niveau sous-cortical, la formation de nouvelles connexions pourrait également se produire chez l'aveugle précoce ou congénital comme par exemple des projections du CI vers le CGLd, tel que vu précédemment chez la souris congénitalement sourde (Hunt et al.,

2006), le rat-taupe (Doron and Wollberg, 1994), le hamster énucléé (Izraeli et al., 2002) et la souris mutante anophtalmique ZRDCT/An (Piché et al., 2004). Ainsi, les individus ayant perdu la vue avant la période critique seraient plus susceptibles de développer une réorganisation anatomique alors que chez les aveugles tardifs, les processus cognitifs comme l'attention et l'entraînement, expliqueraient à eux seuls les phénomènes de plasticité observés (Kujala et al., 1997; Goldreich and Kanics, 2003).

1.3 Généralités sur le système GABA-ergique cortical

La majorité des neurones présents dans le néocortex (70-80%) sont des neurones pyramidaux excitateurs. Les 20-30% restants sont des interneurones, principalement inhibiteurs, dont les caractéristiques morphologiques, physiologiques et moléculaires sont très diversifiées. Malgré cette diversité, les interneurones utilisant l'acide γ -amino butyrique (GABA) comme neurotransmetteur inhibiteur partagent plusieurs caractéristiques. En effet, la plupart des interneurones ne possèdent pas d'épines dendritiques, la présence de synapses excitatrices et inhibitrices sur leur soma, leur projection axonale de courte portée et enfin la capacité de faire synapse tant sur les dendrites, le soma que l'axone de leur cellule cible (Markram et al., 2004) mais ces particularités peuvent se retrouver aussi dans certaines cellules glutamatergiques. Toute cette variété rend les interneurones difficiles à classifier.

1.3.1 Propriétés des interneurones

Les interneurones ne sont pas exclusivement inhibitrices, il existe en effet des cellules étoilées épineuses qui sont aussi glutamatergiques. Ces cellules à courte portée axonale se retrouvent dans la couche IV des cortex sensoriels primaires. Elles reçoivent des inputs excitateurs en provenance du thalamus et transmettent cet influx vers les couches II/III (Feldmeyer et al., 2002). Plusieurs systèmes de classification existent pour tenter de catégoriser les interneurones inhibiteurs. D'abord, ils peuvent être classés selon leur cible. Les quatre grandes classes de cibles sont l'axone, péri-somatique et dendrite

proximal, dendrite et enfin dendrite et touffe dendritique. À l'intérieur de chacune de ces classes, on retrouve différentes morphologies de cellules telles qu'illustrées par la figure 1.12.

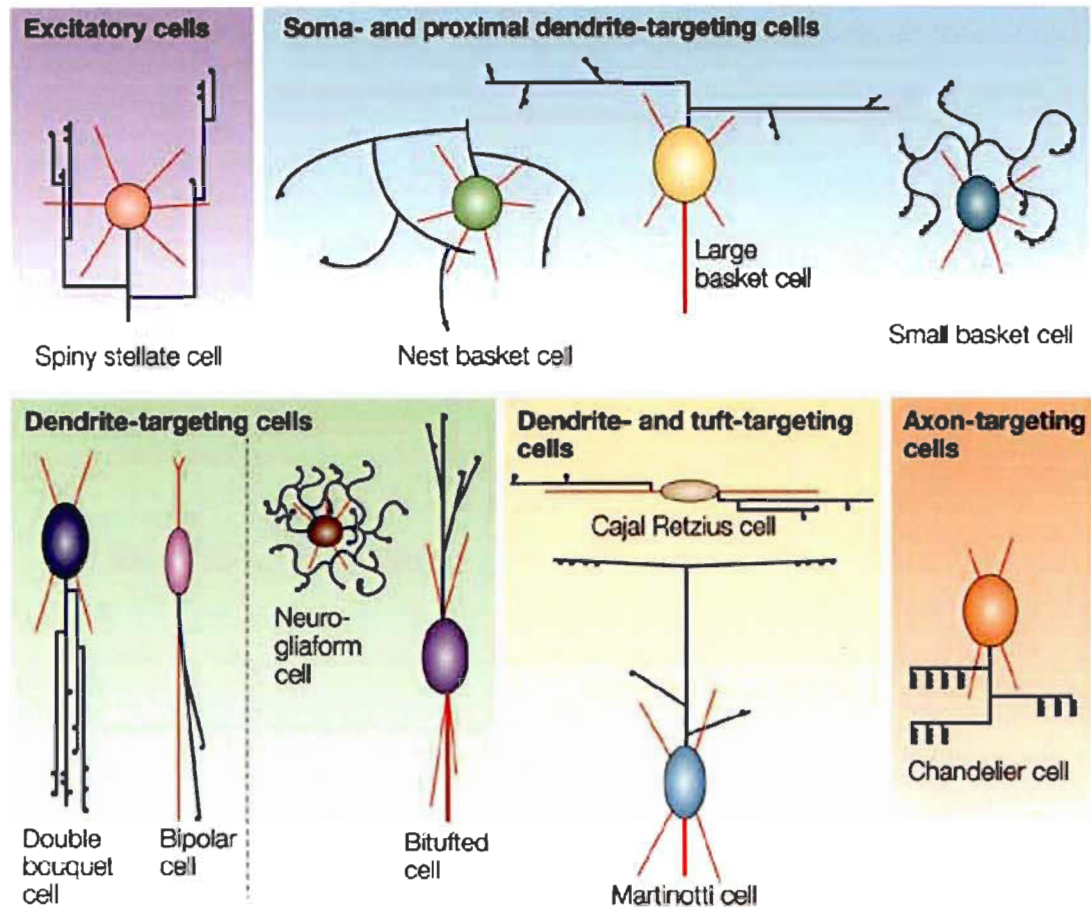


Figure 1.12 : Diversité morphologique des interneurones corticaux.

Les différentes morphologies des interneurones corticaux ainsi que leur structure cible sont représentés ci-haut. Il est important de noter que les dendrites sont représentées en rouges et les axones en bleu. Tiré de Markram et al., 2004.

Ces différentes cellules expriment, à leur surface, différents canaux ioniques leur conférant ainsi une physiologie particulière. En effet, on retrouve au sein des interneurones un large éventail de cellules allant de type « décharge rapide » jusqu'aux

cellules « à décharge lente ». Il en est de même quant à la diversité du type de réponse obtenue suite à une stimulation soutenue.

On a également tenté de classifier les interneurons par leurs propriétés neurochimiques, c'est-à-dire des protéines qu'ils expriment. On retrouve dans un premier temps les neuropeptides. Comme leur nom l'indique, ce sont des peptides synthétisés par les neurones et utilisés comme neurotransmetteur. Ces derniers sont le neuropeptide Y (NPY), l'hormone inhibitrice de l'hormone de croissance (growth hormone inhibiting hormone; GHIH anciennement, somatostatine), le peptide intestinal vasoactif (VIP) et la cholécystokinine (CCK). Cependant, il n'existe aucune corrélation entre les neuropeptides exprimés par un interneurone et sa morphologie ou encore sa physiologie (Markram et al., 2004).

Il existe une autre catégorie de protéines exprimées par les interneurons inhibiteurs. Ce sont les protéines chélatrices de calcium (CBP) : la parvalbumine (PV), la calbindine (CB) et la calrétinine (CR). Bien que leur rôle précis dans le système nerveux central soit peu connu, elles sont reconnues pour participer, comme leur nom l'indique, à l'homéostasie du calcium intracellulaire. La PV est considérée comme un marqueur des interneurons GABAergiques à décharge rapide (Celio, 1986, 1990; Kawaguchi et al., 1987). La CB a un rôle protecteur contre les concentrations neurotoxiques de calcium intracellulaire (Celio, 1990; Kiyama et al., 1990). Le rôle précis de la CR est cependant moins bien défini dans le cortex. Elle serait un marqueur endogène de la présence de fibres sensorielles primaires, principalement rétiniennes, au niveau du thalamus. En effet les fibres CR positives au niveau du CS et du CGL disparaissent une semaine suivant l'énucléation chez le rat (Arai et al., 1992, 1993). Ces CBP, exprimées par 95% des interneurons corticaux, caractérisent trois classes de cellules (Glezer et al., 1998; Hof et al., 1999; DeFelipe, 2002). Ces dernières se chevauchent légèrement puisqu' on retrouve une co-expression de la PV et de la CB dans 5,3% des cellules PV positives du cortex visuel primaire du rat (Gonchar and Burkhalter, 1997). On peut donc considérer qu'il s'agit de trois classes de cellules à toutes fins pratiques, distinctes. Elles sont très souvent utilisées dans l'identification d'aires corticales puisque leur patron d'expression et leur densité reflèteraient la fonction corticale (Hof et al., 1995, 1999; Jones et al.,

1995; Gabbott and Bacon, 1996; Gabbott et al., 1997; Schwark and Li, 2000; Dombrowski et al., 2001; Gonzalez-Albo et al., 2001; Pallas, 2001; Elston and Gonzalez-Albo, 2003). En effet, des différences dans l'expression de la PV et de la CB entre les aires sensorielles primaires visuelle (V1) et auditive (AC) ont été démontrées chez le hamster, le grand dauphin (*Tursiops truncatus*) et le macaque crabier (*Macaca fascicularis*) (Glezer et al., 1998 ; Desgent et al., 2005). Chez des furets rebranchés, c'est-à-dire dont des fibres rétiniennes gagnent le thalamus auditif, le traitement d'information visuelle par AC entraîne des changements dans l'expression et la morphologie des interneurones exprimant la CB et la PV au niveau de ce dernier (Gao et al., 2000; Pallas, 2001). Ces résultats portent à croire que la modalité sensorielle influence la maturation des cellules GABAergiques corticales. Cependant, dans la région entourant le sillon ectosylvien antérieur du chat, où l'on retrouve des aires corticales unisensorielles de haut niveau hiérarchique, aucune différence dans l'expression des CBP n'a été rapportée entre les régions visuelle, auditive ou somatosensorielle (Clemo et al., 2003). La divergence entre ces études pourrait provenir du niveau hiérarchique des modalités sensorielles étudiées. Donc la modalité sensorielle pourrait avoir une influence sur la maturation des cellules inhibitrices corticales dans les aires sensorielles de bas niveau hiérarchique alors qu'elle ne semble pas en avoir sur les aires sensorielles de plus haut niveau.

1.3.2 Organisation des circuits GABAergiques corticaux

Les neurones inhibiteurs, bien que leur nom l'indique, n'ont pas pour effet de simplement « inhiber » les autres neurones mais ont plutôt un rôle modulateur. Ils évitent qu'une trop forte excitation au niveau cortical entraîne un étalement de l'activation sensorielle. Ainsi, ils jouent un rôle crucial dans la compartimentation de l'information qui gagne le cortex. Le rôle des interneurones inhibiteurs corticaux est grossièrement illustré à la figure 1.13. L'influx sensoriel en provenance du thalamus gagne concomitamment une cellule épineuse excitatrice (en vert) et une cellule inhibitrice GABAergique (en orange) de la couche IV (Freund et al., 1985; Swadlow, 2002). La cellule épineuse fait ensuite synapse sur des petits neurones pyramidaux des

couches II/III (en rose) appartenant à la même colonne verticale. De plus, elle fait synapse sur différents types de cellules excitatrices de la couche IV appartenant aux colonnes verticales adjacentes (Fox et al., 2003; Schubert et al., 2003; Staiger et al., 2004). Ces dernières transmettent ensuite l'information sensorielle aux petits neurones pyramidaux de leur propre colonne verticale. Au niveau des couches II/III, l'influx peut gagner d'autres aires corticales par les connexions cortico-corticales (Thomson and Bannister, 2003). On assiste alors à un étalement de l'information sensorielle. Par contre, par l'effet inhibiteur des neurones à décharge rapide des interneurons GABAergiques PV positifs, la cellule épineuse de la couche IV est rapidement inhibée (Gabernet et al., 2005). Ceci n'empêche cependant pas cette dernière de transmettre son input vers les couches supragranulaires de sa propre colonne verticale. La cellule épineuse peut également transmettre son influx aux cellules épineuses des colonnes adjacentes. Cependant, cet input n'est pas suffisant pour que ces dernières puissent retransmettre cet influx vers les couches supragranulaires de leur colonne verticale. La cellule inhibitrice peut également inhiber directement les autres cellules épineuses adjacentes empêchant l'étalement de l'information sensorielle afférente. Il est donc aisé, avec cette illustration, de comprendre le rôle clé joué par les interneurons inhibiteurs corticaux dans la compartimentation de l'information sensorielle afférente (Gabernet et al., 2005).

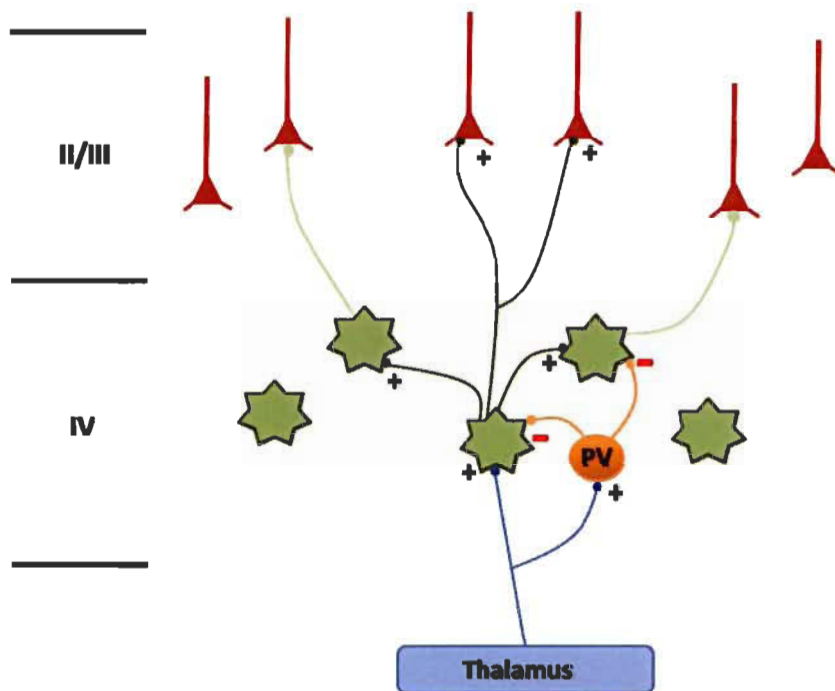


Figure 1.13 : Organisation des circuits GABAergiques corticaux.

Illustration du rôle des interneurones inhibiteurs dans les champs récepteurs corticaux. Les cellules épineuses sont représentées en vert. Un interneurone GABAergique PV positif est illustré en orange. Les petits neurones pyramidaux supragranulaires sont illustrés en rose. Les symboles + et - indiquent une synapse excitatrice et une synapse inhibitrice, respectivement. Les nombres en chiffres romains représentent les couches corticales.

1.3.3 Développement et maturation du système GABAergique

Les neurones qui constitueront le néocortex chez la souris se développent entre les 11^{ème} et 18^{ème} jours post-conception (Clancy et al., 2007). Les cellules GABAergiques prennent origine des cellules souches neurales retrouvées dans la zone ventriculaire de l'éminence ganglionnaire médiale du télencéphale ventral et effectuent une longue migration tangentielle. Les neurones immatures acquièrent leur phénotype mature seulement après avoir atteint leur destination finale. Donc, leur migration ne semble pas nécessaire à leur différenciation (Wonders and Anderson, 2006). Chez la souris, les

premières cellules contenant du GABA apparaissent entre les jours embryonnaires 14 (E14) et E19 dans les zones marginale et ventriculaire du télencéphale ventral puis disparaîtraient presque toutes entre le jour post-natal 0 (P0) et P8. Le patron définitif de cellules et de fibres contenant le GABA se met en place entre P16 et P21 soit durant la période critique de plasticité corticale (Del Rio et al., 1992; Gordon and Stryker, 1996). Des études menées chez le chat ont montré que l'apparition de la PV et de la CB se fait tard dans le développement du cortex. Il a donc été proposé que l'expression des CBP est déclenchée par l'arrivée des fibres en provenance du thalamus puisque dans certains cas, l'apparition de la CB dans les cellules corticales correspondait avec l'arrivée de ces fibres (Hendrickson et al., 1991; Alcantara and Ferrer, 1994, 1995; Hogan and Berman, 1994).

Une étude menée chez le furet a mis en évidence la présence de cellules exprimant la PV et la CB à P0 dans V1 et AC. Leur expression décroît par la suite entre P7 et P20 pour augmenter à nouveau jusqu'à P60 où ils acquièrent leur densité adulte. Chez les furets, l'arrivée de fibres thalamocorticales se produit entre P20 et P30 (Jackson et al., 1989; Chapman and Stryker, 1993). Ces résultats suggèrent que les cellules PV et CB positives restent immatures jusqu'à la fermeture de la période critique de plasticité corticale bien que leur présence initiale soit indépendante de l'activité thalamo-corticale (Gao et al., 2000). Cette dernière jouerait donc un rôle crucial dans les modifications expérience dépendantes des circuits corticaux. En effet, chez des furets chez qui on a redirigé l'information visuelle vers les noyaux thalamiques auditifs, on a découvert des différences dans le nombre et la morphologie des cellules exprimant la PV et la CB dans le cortex auditif (Pallas, 2001). La présence d'activité visuelle dans le cortex auditif primaire par les fibres thalamo-corticales conduit à des modifications de l'expression de la CB et la PV. Donc, l'expression de la PV et de la CB pourrait être influencée par l'activité provenant des fibres thalamiques.

Une étude effectuée chez le rat montre que la PV apparaît dans les cortex visuel et auditif primaires à P11, soit vers P9 chez la souris. Leur expression dans les aires sensorielles secondaires se ferait des les jours suivants. Ces cellules apparaissent dans l'ordre dans les couches V, VI, IV, II et enfin III. On ne retrouve pas de cellules PV

positives dans la couche I. Le patron d'expression définitif de la PV n'est en place qu'à la fin de la 3^e semaine post-natale (Alcantara et al., 1993). Une étude chez la souris a démontré les mêmes résultats (Del Rio et al., 1994). Toujours chez le rat, la CB est présente dès la naissance dans toutes les couches corticales à l'exception de la couche I. Son expression augmente entre les P8 et P11 suivant un gradient de l'intérieur vers l'extérieur pour ensuite diminuer drastiquement entre P11 et P15. On voit apparaître, vers la fin de la 2^e semaine post-natale, des petits neurones pyramidaux dans les couches II/III exprimant faiblement la CB. Le patron définitif de CB n'est en place, comme la PV, qu'à la fin de la 3^e semaine post-natale (Alcantara et al., 1993). Chez le rat, l'expression de la CR est similaire à celle de la CB. Des cellules CR positives sont retrouvées très tôt dans le développement suivant également un gradient laminaire de l'intérieur vers l'extérieur. Le patron définitif de la CR, comme pour la PV et la CB, n'est en place qu'à la fin de la 3^e semaine post-natale. Cependant, contrairement à la CB, on ne trouve pas de neurones pyramidaux matures exprimant la CR (Fonseca et al., 1995). Donc, chez les animaux étudiés, il semble que le système GABAergique cortical reste immature jusqu'à fermeture de la période critique de plasticité corticale et que la modification des afférences gagnant le cortex influence le patron d'expression définitif des CBPs.

1.3.4 Effets de la déprivation sensorielle sur les champs récepteurs GABAergiques corticaux

Il est maintenant bien établi que l'activité sensorielle afférente est essentielle à la maturation du système d'inhibition GABAergique cortical (Sur and Rubenstein, 2005). Plusieurs études ont démontré qu'une déprivation sensorielle durant une période critique entraînait des changements significatifs dans la transmission GABAergique corticale (Benevento et al., 1992; Morales et al., 2002; Gianfranceschi et al., 2003;). Par exemple, une équipe de chercheurs a démontré une forte augmentation du nombre de cellules PV et CB positives suivant la fermeture de la période critique dans V1 et AC chez le furet. Ceci suggère que l'effet de l'activité sensorielle afférente joue un rôle prépondérant sur la maturation du système GABAergique cortical (Gao et al., 2000). La CR quant à elle

semble peu affectée par une déprivation sensorielle puisque son expression au niveau du noyau olfactif antérieur semble inchangée à la suite de la suture d'une narine à la naissance (Barbado et al., 2002). Récemment, une étude a mis en évidence une diminution de l'expression de l'ARNm et de la PV dans V1 mais non de la CR, GHIH et le NPY chez des souris élevées en noirceur (Tropea et al., 2006). Également chez la souris, une injection intraoculaire de tétrodotoxine (TTX) entraîne une réduction du nombre de synapses périsonmatiques normalement formées par des interneurons GABAergiques PV positifs (Chattopadhyaya et al., 2004). Enfin, des résultats similaires ont été également démontrés dans le système somatosensoriel primaire (S1) du rat. En effet, suite à la coupe des vibrisses, on observe une diminution spécifique du nombre de cellule PV positives alors que le nombre de cellules GABAergique est le même. De plus, l'enregistrement électrophysiologique dans ces interneurons inhibiteurs montre des caractéristiques typiques de neurones immatures (Jiao et al., 2006). En conclusion, tous ces résultats suggèrent qu'une activité sensorielle post-natale est essentielle à la maturation normale du système inhibiteur GABAergique cortical.

1.4 Modèles animaux utilisés

L'utilisation de modèles animaux s'avère indispensable dans l'étude des principes fondamentaux des effets de la déprivation sensorielle. Mon étude confronte deux modèles de déprivation sensorielle : la souris mutante anophtalmique ZRDCT/An et la souris de souche C57BL/6 énucléée à la naissance.

De nombreux travaux menés dans notre laboratoire ont conduit à une meilleure compréhension de ces groupes expérimentaux. Chez les souris ZRDCT/An, qui ne développent ni rétine ni voies visuelles, des études de traçage neuronal ont mis en évidence la présence de fibres en provenance du CI atteignant le CGLd (Piché et al., 2004; Chabot et al., 2007). Conjointement, une étude immunohistochimique de la protéine c-fos a démontré une forte activité auditive dans le thalamus visuel ainsi que dans l'aire visuelle primaire (V1) et une activité plus faible dans l'aire visuelle secondaire (V2). Cependant, chez les souris C57BL/6 énucléées à la naissance, on

retrouve une activité auditive dans V2, aucune dans le thalamus visuel et très peu au niveau de V1. Ces résultats corroborent les résultats de traçage qui ne démontrent aucune fibre auditive dans le CGLd dans ce modèle (Piché et al., 2004; Chabot et al., 2007) (figure 1.14).

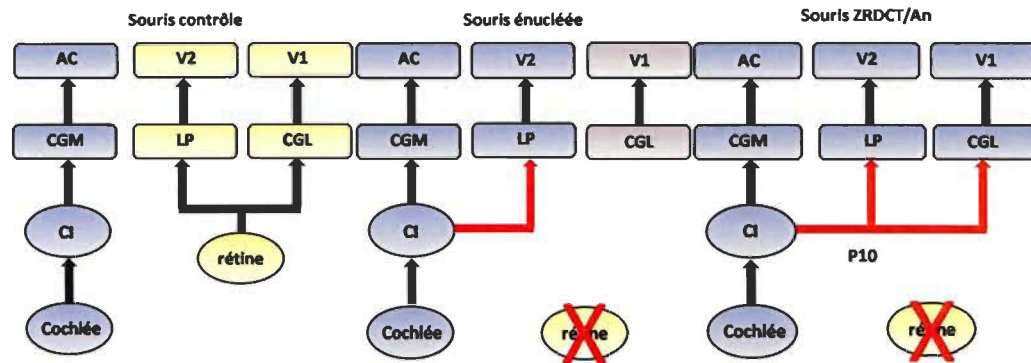


Figure 1.14 : Schéma des connexions des modèles animaux

Les deux modes de déprivation sensorielle différents mènent à des patrons de connexions différents. Les structures en jaune répondent à des stimuli visuels, en bleu auditif et en gris, ni visuel ni auditif.

1.4.1 Différences entre les 2 modèles de déprivation utilisés

Chez la souris, les voies visuelles sont mises en place durant le développement embryonnaire. Les fibres en provenance de la rétine atteignent le CGLd vers E13 (Clancy et al., 2007). Les fibres thalamo-corticales arrivent dans la sous-plaque corticale dès E15 (Lopez-Bendito and Molnar, 2003). Il existe donc une fenêtre développementale où l'activité spontanée en provenance des fibres rétinienne interagissent avec les précurseurs des neurones qui formeront le cortex visuel primaire dans la sous-plaque. La couche IV termine sa maturation à E17, soit une journée avant la naissance, puis les fibres thalamo-corticales atteindront la couche IV du cortex visuel à P3 (Clancy et al., 2007). Si l'énucléation est effectuée à la naissance, cette déafférentation survient donc après la mise en place définitive de la couche IV et avant l'arrivée des fibres thalamo-

corticales. Cependant, les neuroblastes ont été influencés dans la sous-plaque pendant environ deux jours par l'activité spontanée présente dans les fibres rétiniennes atteignant le CGLd. Suite à la déafférentation, les nerfs optiques, le chiasma et les tractus optiques régressent (figure 1.15). Il y a alors mort et dégénérescence des voies visuelles. L'étude de la protéine c-fos ne montrant pas d'activité auditive dans V1, tout porte à croire qu'il reste exempt d'information auditive durant le développement post-natal.

La souris anophtalmique ne développe aucune rétine ni voie visuelle. Les afférences thalamo-corticales se mettent en place normalement mais ne transmettent pas d'information visuelle durant la période périnatale. Contrairement à la souris énucléée, des afférences auditives atteignent le thalamus visuel puis le cortex. En effet, une étude développementale de notre laboratoire a permis de déterminer que les fibres ectopiques atteignant le CGLd en provenance du CI arrivent entre P7 et P8 (Le Houillier et al., 2004). C'est donc un des chemins par lequel de l'information auditive peut atteindre le cortex visuel. De plus, une étude de 2-déoxyglucose a montré récemment une activation de V1 suite à la stimulation de vibrisses de souris (Tremblay et al, résultats non publiés). Ce cortex, au départ dédié à la vision, traite maintenant des informations auditives et somesthésiques.

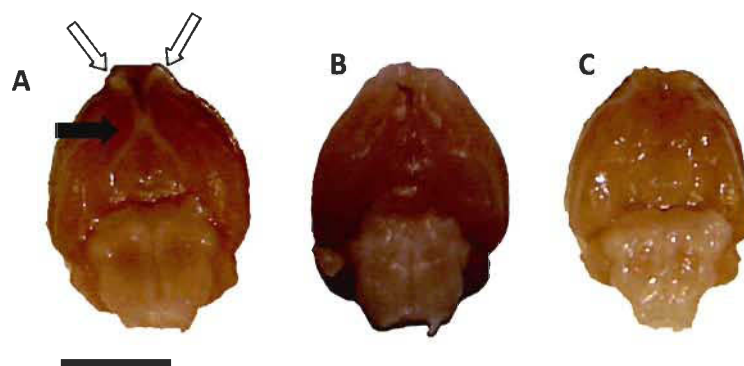


Figure 1.15 : Cerveaux des modèles animaux utilisés

A : souris contrôle; B : souris énucléée; C : souris mutante ZRDCT/An. Il est à noter l'absence de voies visuelles chez les souris aveugles alors que les nerfs optiques (flèches claires) et le chiasma (flèche foncée) sont présents chez la souris voyante. Échelle 5 mm. Les différences de couleur sont dues à l'éclairage.

1.4.2 Particularités de la souris ZRDCT/An

Cette souche de souris a été décrite pour la première fois en 1941. Une mutation du gène Rx/Rax sur le chromosome 18, également responsable d'anophtalmie congénitale humaine, empêche la mise en place du globe oculaire, de la rétine et des voies rétino-fuges (figure 1.14). La pénétrance de la mutation n'est toutefois pas complète. En effet, environ 10% des animaux naissent avec une microphtalmie d'un ou des deux yeux. Dans de rares cas, une formation oculaire bilatérale normale survient (Chase and Chase, 1941).

1.4.3 Les différents modes de déprivation sensorielle

Dans la littérature, on retrouve différents modes de déprivation sensorielle. Certains sont moins invasifs comme l'élevage en noirceur ou encore la suture des paupières. La première méthode empêche toute lumière d'atteindre la rétine, alors qu'avec la suture des paupières, des images à basses fréquences et à faibles contrastes peuvent être formées sur la rétine sans que l'animal puisse toutefois y discerner des éléments du champ visuel. Donc, ces deux modes empêchent toute information visuelle complexe du champ visuel d'atteindre le cortex occipital. De plus, l'activité électrique spontanée ainsi que l'activité trophique sont conservés. D'autres méthodes plus invasives comme l'énucléation et l'injection intraoculaire de TTX sont également utilisées. La première, par la coupure du nerf optique empêche toute activité tant électrique que trophique de gagner le cortex visuel. La seconde, par l'inhibition de pompes sodium dépendantes du voltage, empêche toute afférence de nature électrique de gagner le cortex visuel alors que l'activité trophique est conservée (Meyer, 1983). Dans cette étude, tant chez la souris anophtalmique qu'énucléée, il y a absence de fibres réticulo-géniculées chez l'adulte donc aucune activité électrique ou trophique.

1.5 Considérations méthodologiques

1.5.1 Immunohistochimie

L'expression des CBPs sur des coupes de cerveaux sera déterminée immunologiquement à l'aide d'anticorps polyclonaux fabriqués chez le lapin. Le principe est essentiellement la reconnaissance d'un épitope à la surface de la protéine par l'anticorps. Afin de révéler la présence d'anticorps couplés aux protéines d'intérêt, un second anticorps polyclonal biotinylé dirigé contre les protéines du lapin se lie à l'anticorps primaire. Il peut être révélé grâce à la présence sur l'une de ses extrémités d'une vitamine de faible poids moléculaire, la biotine. Un système d'amplification du signal est utilisé, soit le complexe avidine-biotine (ABC). Le principe tient de la forte affinité de l'avidine, une glycoprotéine d'un poids moléculaire de 68 000 kDa, pour la biotine. On applique donc au tissu une solution contenant de l'avidine ainsi que de la biotine couplée à une peroxydase. Il y a ainsi formation de complexes tridimensionnels avidine-biotine-peroxydase liés aux anticorps secondaires. Il suffit ensuite ajouter un agent chromogène, le 3-3'diaminobenzidine (DAB) et le substrat pour la peroxydase, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). La réduction du H_2O_2 par la peroxydase entraînera l'oxydation du DAB. Ce dernier formera alors un précipité brun stable et résistant aux solvants organiques. Ces précipités sont ensuite aisément visualisables en microscopie optique en champ clair.

1.5.2 Microscopie et analyse des résultats

Les coupes histologiques sont analysées en microscopie à l'aide du logiciel Neurolucida. Toutes les cellules immunoréactives sont cartographiées à l'intérieur des aires corticales V1, V2 latéral (V2L), V2 médial (V2M) et AC. Les délimitations des aires corticales sont déterminées grâce à des coupes sériées adjacentes colorées au crésyl violet. Les cortex sensoriels primaires sont dotés d'une couche IV plus épaisse et donc facilement

identifiable en microscopie optique (Caviness, Jr., 1975). Chez la souris anophtalmique, bien que VI ne reçoive plus d'afférences de nature visuelle en provenance du LGNd, il conserve tout de même sa cytoarchitecture, malgré une diminution de l'épaisseur des couches granularis externa (couche II), pyramidalis (couche III) et multiformis (couche VI) (Chase, 1945). Les cortex visuel secondaires sont également facilement distinguables par leur couche IV plus mince ainsi que leurs couches Va et Vc profondément hypocellulaires (Caviness, Jr., 1975). Enfin, les cinq couches corticales (I, II/III, IV, V et VI), visibles sur les coupes après immunodétection, sont finalement délimitées.

1.5.3 Quantification stéréologique

La stéréologie a fait son apparition pour la première fois sur la scène scientifique en 1961 (Elias et al., 1971). Il s'agit d'un ensemble de méthodes permettant une représentation quantitative précise d'objets en 3-D à partir de coupes histologiques. Cette technique permet ainsi une analyse de la forme, de la taille et enfin du nombre d'objets dans un volume donné. Il est donc possible, à partir de coupes histologiques sérieées, de déterminer avec précision le nombre de neurones présents à l'intérieur d'une aire corticale grâce à au logiciel Stereo Investigator. La quantification stéréologique se fait en échantillonnant, de manière non biaisée, l'aire corticale. Le principe fondamental est que chaque cellule a la chance de faire partie de l'échantillon et qu'aucune d'entre elles ne puisse être comptabilisée plus d'une fois (Mouton, 2001).

Une fois l'aire corticale identifiée et délimitée, Stereo Investigator applique une grille d'échantillonnage de manière aléatoire sur la surface à étudier. À chacun des coins supérieurs gauches du tracé se trouve une fenêtre de comptage (figure 1.16). Ceci se nomme l'échantillonnage aléatoire systématique.

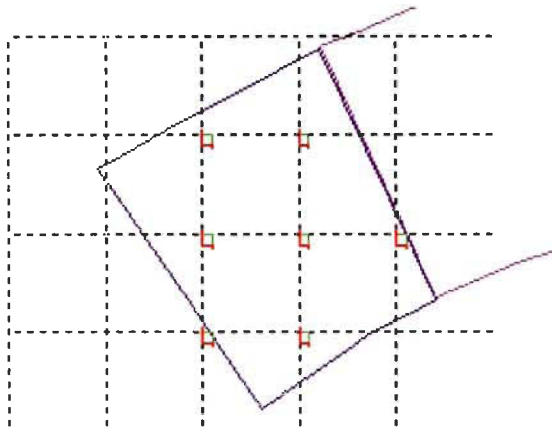


Figure 1.16 : L'échantillonnage aléatoire systématique

La grille (en noir) est appliquée sur la surface à échantillonner (contour bleu). Chacun des coins supérieurs gauches touchant à la surface bleue contient une fenêtre de comptage (vert et rouge).

Les fenêtres de comptage représentent chaque endroit où le nombre de neurone sera compté. Afin d'éliminer un biais de sélection, chaque cellule ne doit être comptée qu'une seule fois. L'épaisseur de la coupe ainsi que la taille des cellules peuvent entraîner une surestimation de leur nombre puisqu'elles peuvent se retrouver sur plus d'une coupe tel qu'illustré par la figure 1.17.

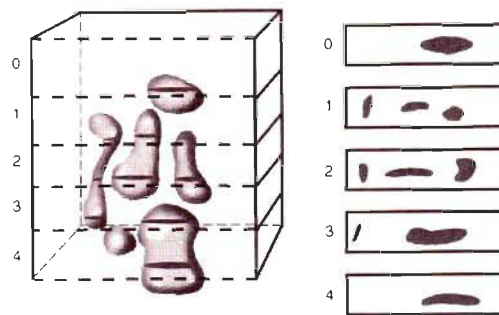


Figure 1.17 : Surestimation du nombre de cellules lors de l'échantillonnage

Alors que dans un bloc de tissu contenant six cellules, dix cellules sont comptabilisées sur quatre coupes sériées. Tiré de Mouton, 2001.

Afin d'éviter cette surestimation qui constitue un biais systématique, chacune des fenêtres de comptage est en fait un dissecteur optique. Ce dernier est un cube à six faces dont deux faces sont dites d'inclusion et deux autres d'exclusion (axes X et Y). Toute cellule en contact avec les faces d'exclusion n'est pas comptée alors que celles touchant les faces d'inclusion le sont. Ceci permet aux cellules de forme irrégulière de ne pas faire partie de l'échantillon plus d'une fois. Les deux dernières faces représentent le dessus et le dessous de la coupe de tissu ou l'axe Z. Selon le volume des cellules à échantillonner, on désigne deux zones de protection sur l'axe Z (une au dessus et l'autre en dessous de la coupe) où toutes les cellules s'y trouvant ne seront pas comptabilisées. Ceci évite ainsi d'échantillonner une partie du tissu où des cellules ont pu être endommagées ou encore extraites lors de la coupe du cerveau. La figure 1.18 représente un dissecteur optique.

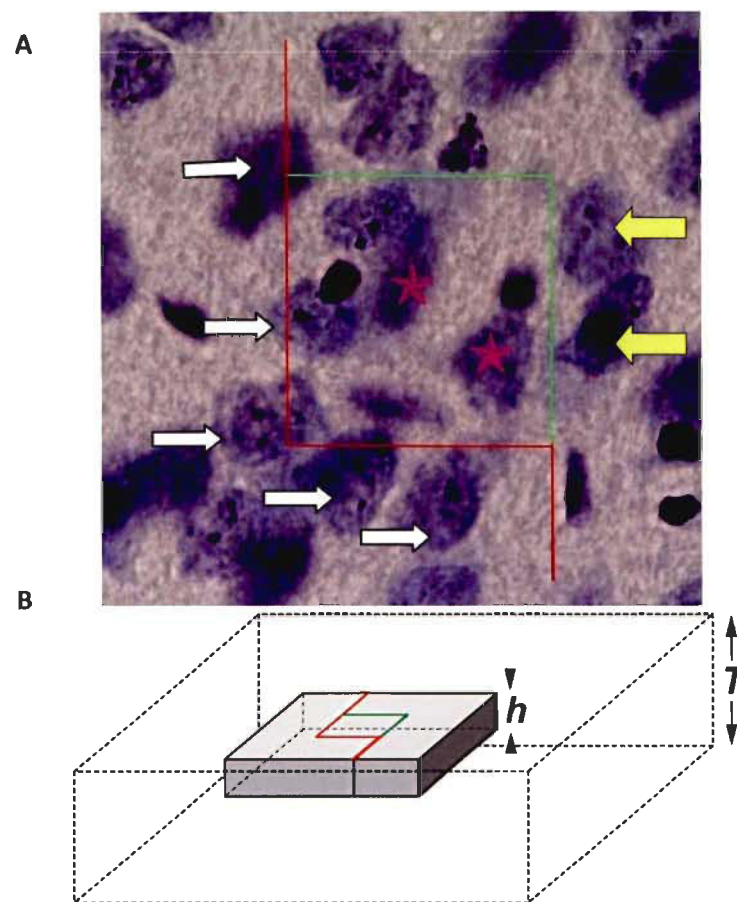


Figure 1.18 : Dissecteur optique

Sur la figure A, les lignes rouges représentent les faces d'exclusion du dissecteur optique tandis que les vertes sont celles d'inclusion. Les cellules se trouvant à l'intérieure du cube (en rose) sont comptabilisées ainsi que celles pointées par une flèche jaune. Par contre, les cellules pointées par une flèche blanche sont exclues. La figure B représente la zone de protection dont l'épaisseur se calcule par $T-h$. Tiré de Christensen et al., 2007.

Une fois l'échantillonnage terminé et les cellules correctement marquées, le logiciel estime le nombre de cellules total se trouvant dans le volume à considérer. En effet, en connaissant l'épaisseur, le nombre et la distance entre les coupes, Stereo Investigator détermine le nombre, de manière non biaisée, de neurones dans l'aire corticale étudiée.

Il est également possible de déterminer l'exactitude de l'estimation obtenue. Le coefficient d'erreur de Gundersen (CE) est la valeur la plus couramment utilisée pour déterminer la précision du nombre de cellules obtenue (Gundersen et al., 1999). Cette valeur est calculée principalement à partir de deux valeurs de variance. La première est la variance intra-section. C'est-à-dire la variation de distribution des cellules à l'intérieur d'une même coupe. Étant donné que les neurones ne sont pas distribués de façon uniforme dans chacune des six couches corticales, il faut donc que chacune d'elle puisse faire partie de l'échantillonnage, d'où l'importance de l'échantillonnage aléatoire systématique. Si la valeur de la variance intra-section est trop élevée, il faut ajuster la taille de la grille d'échantillonnage pour obtenir un plus grand nombre de fenêtres de comptage. La taille de cette dernière influence également la valeur de la variance. Le nombre de cellules présent dans chacune d'elles doit être le plus constant possible. Donc, si les cellules sont peu densément dispersées, la fenêtre de comptage devra être plus grande et inversement si la distribution cellulaire est plus dense. Quelques essais préliminaires sont nécessaires avant d'obtenir des estimations acceptables, c'est-à-dire avec des CE en deçà de 10%. Enfin, le deuxième type de variance est dite inter-section, donc entre les coupes. Cette valeur peut être diminuée en augmentant le nombre de coupes étudiées. Un minimum de trois coupes est nécessaire pour obtenir une estimation statistiquement significative.

Ainsi, grâce à l'utilisation de Stereo Investigator, permettant l'échantillonnage aléatoire systématique à l'aide de dissecteur optique, il est possible d'obtenir une estimation non biaisée du nombre de neurones présents dans une aire corticale. Les facteurs qui influencent la précision de l'estimation sont la variabilité biologique que représente chacun des animaux étudiés et la faculté de l'expérimentateur d'identifier les neurones parmi les différentes populations de cellules présentes dans le cortex cérébral.

La coloration des corps de Nissl à l'aide de crésyl violet révèle la présence d'ARN ribosomal. Ainsi, les neurones, les cellules gliales et les cellules endothéliales sont révélés par ce marquage. Les critères d'identification d'un neurone sont la présence centrée d'un nucléole, un noyau distinct, la présence de cytoplasme, la présence de

processus dendritique et enfin un large corps cellulaire (Christensen et al., 2007). La figure 1.19 montre des neurones ainsi que des cellules gliales colorés au crésyl violet.

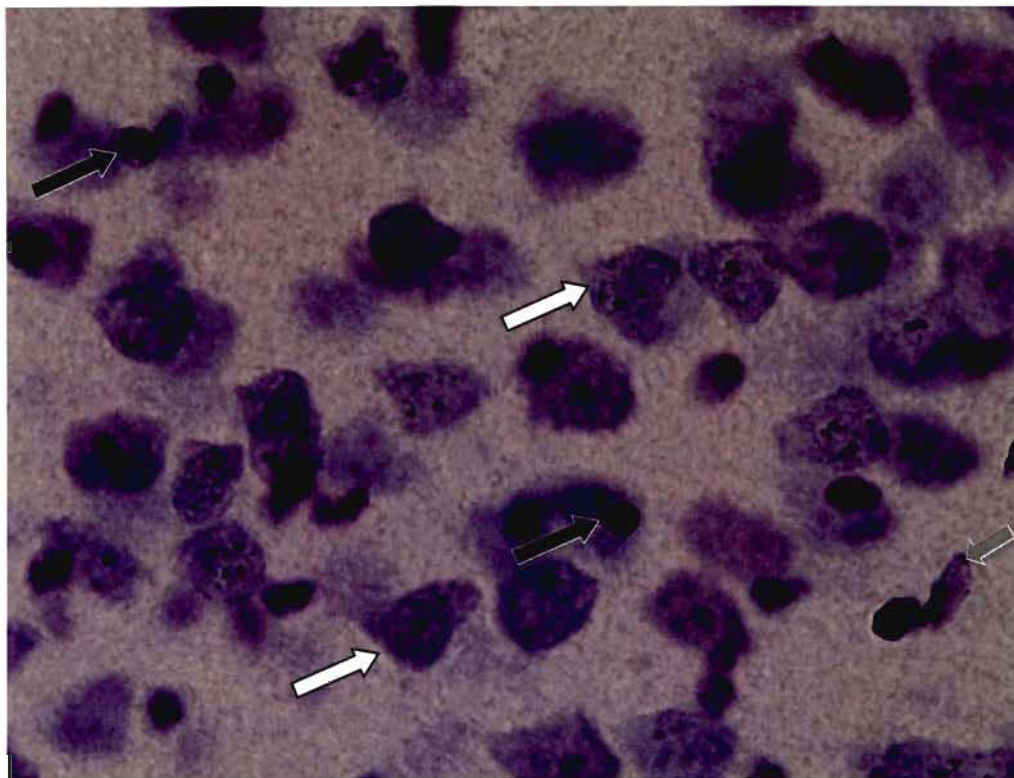


Figure 1.19 : Coloration de Nissl au crésyl violet

Deux neurones sont pointés par une flèche blanche, deux cellules gliales sont pointées par une flèche noire et une cellule endothéliale désignée par une flèche grise.

1.6 Objectifs de la recherche

L'objectif général du projet proposé est de déterminer le rôle de l'information sensorielle afférente sur le développement des cellules CBP positives en caractérisant leur expression dans les aires sensorielles auditive et visuelle primaires ainsi que les aires visuelles secondaires latérale et médiale. Cette caractérisation se fera à l'intérieur de chacune des six couches corticales afin d'établir un patron d'expression des CBPs à

l'intérieur des aires sensorielles. Le nombre de cellules CBP positives sera exprimé par mm^3 de cortex.

1.6.1 Objectifs spécifiques

Les résultats attendus permettront de déterminer l'effet d'une déprivation sensorielle et d'un changement de modalité d'une aire corticale sur l'expression des CBPs du système d'inhibition corticale GABAergique. La méthodologie ainsi que les modèles animaux proposés seront appropriés pour l'accomplissement du projet de recherche. En effet, chez la souris énucléée à la naissance, nous pourrions déterminer l'effet d'une absence d'afférence sensorielle sur la maturation des interneurons corticaux. La souris anophtalmique nous permettra quant à elle de déterminer si la nature de l'information sensorielle afférente joue un rôle dans l'expression des CBPs puisque V1, d'abord exempt d'information sensorielle, reçoit des afférences auditives vers P8 quand des fibres en provenance du CI gagnent le LGNd (Le Houillier et al., 2004).

Nos hypothèses sont, dans un premier temps, la déficience post natale d'afférence sensorielle entraînerait une diminution de l'expression des CBPs dans V1 chez la souris énucléée. Ce déficit conduirait également à une perte neuronale étant donné la non-utilisation du cortex visuel. Deuxièmement, si tel que nous nous y attendons, le patron d'expression des CBPs diffère entre A1 et V1 chez la souris contrôle, nous croyons que l'activité auditive présente dans V1 conduirait ce dernier à exprimer un phénotype auditif chez la souris anophtalmique.

1.6.2 Portée et originalité de la recherche

La souris mutante anophtalmique ZRDCT/An représente un modèle de compensation sensorielle unique. En effet, dû à sa cécité précoce, elle permet d'étudier l'influence de la modalité sensorielle sur le développement du système inhibiteur GABAergique. Nous pourrions ainsi comparer l'influence des facteurs, intrinsèques et extrinsèques, qui

déterminent l'identité d'une aire corticale. Enfin, les résultats obtenus permettront de mieux cerner le rôle joué par le système GABAergique dans les compensations sensorielles à la suite de la perte d'un sens.

CHAPITRE 2

ARTICLE

Titre: Effects of sensory information on the laminar distribution of calcium binding proteins of cortical interneurons.

Authors : Virginie Boucher^{1,2,3}, Marie-Eve Laramée^{1,2}, Denis Boire^{1,2} and Gilles Bronchti^{1,2}

Authors and affiliations:

¹Département de Chimie-Biologie, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, Canada ; ² Groupe de Recherche en Neurosciences, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, Canada, ³ Faculté de Médecine de l'Université de Montréal, Montréal, Canada.

Running title: Laminar distribution of calcium binding proteins in blind mice.

Correspondence to:

Gilles Bronchti Ph.D.

3351, boul. des Forges

C.P. 500, Trois-Rivières (QC)

G9A 5H7

Telephone: 819-376-5011 ext 3352

Fax: 819-376-5084

E-mail: [**Gilles.Bronchti@uqtr.ca**](mailto:Gilles.Bronchti@uqtr.ca)

This article has not been submitted. Boucher V has written the manuscript, made all the experiences and performed the analysis of the results. Laramée ME has helped in the

elaboration of the experimental protocol and in the immunohistochemistry. As, respectively, co-director and director of research, Boire D and Bronchti G have supervised all this work.

Abstract

Early onset of blindness results in cross-modal activation of visual cortex by auditory stimuli. In addition, blindfold experiments in normal human subjects show similar cross-modal cortical activations. It has been suggested that these cross-modal cortical activations were made possible by a reduction of the activity of cortical inhibitory GABAergic circuits. Animal models of sensory deprivation have demonstrated a reduction of the expression of parvalbumin immunopositive GABAergic terminals in layer V. This study proposes to determine the role of afferent activity and of the type of sensory modality in the expression of calcium binding proteins: parvalbumin, calretinin and calbindin in cortical GABAergic neurons in two blind mice models. Despite a reduction of the volume of the primary visual cortex, the total number of neurons remains stable in blind models. Our results show differences in the expression of parvalbumin and calbindin between primary auditory and visual cortices in control mice. Considering the expression of calbindin, these differences disappear in the blind mice so they seem to have auditory patterned primary visual cortex. However, this holds only for this protein. Auditory and visual cortices have a similar pattern of calretinine expression in normal mice but they differ in the blind animals. Finally, the cortical expression of parvalbumin seems not to be affected by the enucleation but differs greatly between the 2 blind mice strains studied. These results confirm the critical role of afferent activity in the development of cortical inhibitory system in the primary visual cortex.

Keywords

calcium binding proteins, enucleation, immunohistochemistry, interneurons, primary sensory cortex, ZRDCT/An.

Introduction

It is now well established that afferent sensory input is essential for the maturation of cortical GABA (gamma-aminobutyric acid) inhibitory circuitry (Sur and Rubenstein, 2005). However the importance of the type of sensory information conveyed by these inputs is largely unknown. Many studies demonstrate that sensory deprivation during a critical period leads to significant alterations in proteins expression in the GABAergic cortical inhibitory system (Benevento et al., 1992; Morales et al., 2002; Gianfranceschi et al., 2003). A study showed in primary visual cortex (V1) a down-regulation of the expression of mRNA and of parvalbumin (PV) but not of calretinin (CR), growth hormone inhibiting hormone (GHIH) and neuropeptide Y after dark rearing (DR) (Tropea et al., 2006). Gao et al. demonstrated that changes in the number of PV-positive interneurons parallel visual critical period onset suggesting an experience-dependant maturation of the GABAergic circuitry (Gao et al., 2000). A more recent study using intraocular TTX (tetrodotoxin) injections showed a reduction in the maturation of perisomatic synapses formed by PV-positives interneurons (Chattopadhyaya et al., 2004). Similar results are found in the primary somatosensory system after whisker trimming suggesting that the amount of GABA, its receptors, and the number of synapses are correlated with levels of neuronal activity (Micheva and Beaulieu, 1995; Jiao et al., 2006).

Calcium binding proteins (CBP) are often useful for the identification of specific cortical areas (Hof et al., 1995, 1999; Jones et al., 1995; Gabbott and Bacon, 1996; Gabbott et al., 1997; Schwark and Li, 2000; Dombrowski et al., 2001). These CBPs are PV, CR and calbindin (CB) and are expressed by 90-95% of cortical GABAergic interneurons (Glezer et al., 1998; Hof et al., 1999; DeFelipe, 2002). Differences in the density and the distribution of GABAergic cortical neurons in different cortical areas are believed to reflect differences in cortical functions (Pallas, 2001; Elston and Gonzalez-Albo, 2003). Such differences were found between V1 and the primary auditory cortex (AC) in hamsters for PV and CB but not for CR (Desgent et al., 2005). Does the nature of the afferent sensory information influence the maturation of these CBPs? Clemo et al., 2003

proposed that GABA contribution to sensory processing is highly stereotyped regardless to modality. However, in rewired ferret, the auditory cortex that receives visual information showed changes in the distribution and the morphology of GABAergic neurons expressing PV and CB (Gao et al., 2000; Pallas, 2001). This leads to two hypotheses: First, all primary sensory cortices have the same circuitry pattern. Second, the inhibitory circuitry depends on the sensory modality and can be modified after cross-modal rewiring.

The congenitally anophthalmic ZRDCT (ZRDCT/An) mouse is a mutant strain that develops no retina or optic nerve (Chase and Chase, 1941). Ectopic connections between the inferior colliculus (IC) and the visual thalamus (lateral geniculate nucleus dorsal, LGNd) have previously been demonstrated in this strain (Piché et al., 2004; Chabot et al., 2007). These connections arrive on postnatal day 7 (P7) and are stabilized on P10 (Le Houillier et al., 2004). The anophthalmic mouse also shows auditory activity in V1 (Piche et al., 2004; Chabot et al., 2007). The particularity of this strain is that from conception to the end of the first postnatal week, V1 receives no spontaneous and no afferent sensory information. Conversely, in C57BL/6 mice enucleated at birth, there is no connection between IC and LGNd and no auditory activity in V1 (Chabot et al., 2007). However, in the secondary visual cortex (V2) a significantly higher auditory activity was found compared to control mice (Chabot et al., 2007). This secondary cortical area receives spontaneous retinal information during prenatal development and, after enucleation at birth, it receives sensory activity mostly through feedback pathways from others modalities (mainly audition) since vision is deprived before the critical period.

The aim of this study is to determine whether the maturation of the cortical GABAergic circuitry depends on the afferent sensory information. To reach our objective, immunohistochemistry was used to show CBPs patterns in control, ZRDCT/An and enucleated mice. In regards to results obtain in hamsters (Desgent et al., 2005), we first hypothesize that V1 and AC would show a different CBPs pattern of expression in control mice. Second, V1 in ZRDCT/An mice would show CBPs laminar distribution similar to AC because of the demonstrated auditory activity. Third, V1 of enucleated

mice would demonstrate a reduction in the expression of PV and CB due to sensory deprivation. Our results indicate that the nature of the sensory information may play a critical role in development and maturation of the cortical GABAergic circuitry.

Material and methods

Animals and experimental group

Animals were treated in accordance with the regulations of the Canadian Council for the Protection of Animals (CCPA). The protocols have been carried out in accordance with the National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals of the Université du Québec à Trois-Rivières. In this study we used mice from our colony from the congenitally anophthalmic strain ZRDCT/An ($n = 4$) and C57BL/6 mice enucleated neonatally ($n = 4$) as experimental groups. Normal C57BL/6 mice ($n = 4$) served as controls. Bilateral enucleations were performed on mouse pups within the 24h following birth under deep anesthesia by hypothermia. The palpebral fissure was opened with a scalpel, the eyeball was gently pulled-out and the optic nerve sectioned. Ocular orbits were only filled with Gelfoam (Upjohn, Kalamazoo, Michigan) and newborns were warmed before being returned to their mother.

Perfusion

Adult mice (between 90 and 120 days) were deeply anesthetized with a lethal dose of 120 mg/kg sodium pentobarbital (Euthanyl, Bimeda-MTC, Cambridge, Ontario) by intraperitoneal injection and then perfused with 0,1M phosphate buffered 0,09% saline (PBS) pH7,4 followed by phosphate buffered 4% paraformaldehyde. Brains were removed from the skull and postfixed in phosphate-buffered 4% paraformaldehyde for 1 hour, transferred to a 30% solution of sucrose for 24-36 hours and frozen with carbonic ice. Serial 40 μ m thick coronal sections were taken using a freezing microtome. Three

series were processed for calbindin, calretinin, and parvalbumin immunohistochemistry and two additional series from each case were mounted on slides and stained for Nissl with cresyl violet or processed for myelin immunohistochemistry to properly characterize the cortical areas of interest and to differentiate the cortical layers.

Immunohistochemistry

Free-floating sections were processed for localization of either calbindin D-28K (rabbit polyclonal; 1:10000; Chemicon International), parvalbumin (rabbit polyclonal; 1:50000; Chemicon International), calretinin (rabbit polyclonal; 1:20000; Chemicon International) or myelin (rabbit polyclonal 1:500; Abcam, Cambridge, MA). They were first incubated 45 minutes with a solution containing 70% methanol and 0.15% H₂O₂ to quench endogenous peroxidase. Sections were then incubated in 2% normal donkey serum to block non-specific binding sites, and then placed in a solution of primary antibody with 1% normal donkey serum overnight at room temperature. Between each step, sections were thoroughly rinsed with 0.1M pH7.4 PBS. All incubation solutions contained 0.3% Triton X-100. After incubation, the tissue was rinsed and incubated with a secondary antibody (Biotin-SP conjugated donkey anti-rabbit; 1:500 Jackson Laboratories, Hornby, Ontario) for 2h. Following further rinsing, the tissue was incubated for 90 minutes in an ABC solution (Vector, PK4000 Standard kit), washed in a 0.1M tris-phosphate buffer solution pH8.0 and incubated in a 150 mg/l DAB (diaminobenzidine) with 0.005% H₂O₂ in 0.1M tris-phosphate buffer solution. Sections were then mounted on gelatinized glass slides, air-dried, dehydrated and coverslipped with Permount histological mounting medium (FisherChemicals, Fair Lawn, New Jersey). As a control for labelling specificity, the primary antibodies were omitted. No staining was detected for the antibody under these circumstances.

Data analysis

For each animal CB-, CR- and PV-ir cells were plotted on four or five coronal sections at 400 μm intervals. The studied areas (AC, V1, V2 lateral (V2L), V2 medial (V2M)), were delimited and traced at low magnification (4x, aperture 0.16) using the Nissl stained adjacent section. All CBP-ir cells were counted in each area at higher magnification (20x, aperture 0.75). The results are expressed by number of immunoreactive neurons by mm^3 of cortex. The laminar delimitation was made using the immunohistochemical staining and the Nissl stained adjacent section. The quantitative regional and laminar analyses of the neurochemical markers were performed using a Olympus BX51WI microscope equipped with a three-axis computer-controlled stepping motor system (0.05 μm resolution) coupled to a personal computer and to a color Optronix CCD camera and the Neurolucida software (MBF Biosciences, Williston, Vermont). No stereological methods were attempted because an insufficient number of counting frames of an adequate size fell within the boundaries of the thinnest cortical laminae and hence, differences in laminar distributions might have been overlooked.

The total number neuron was estimated in AC, V1, V2L and V2M using the optical fractionator, an unbiased stereological procedure. Seven to ten 200 μm interval sections Nissl stained by violet cresyl were analyzed. The Stereo-Investigator software version 7.0 (MBF Bioscience, Williston, Vermont) was used to collect data from four animals in each of the experimental groups. For each section, the contours of the sensory area were first traced at low magnification (4x aperture 0.16). Then, at high magnification (100x oil, aperture 1.40), the optical fractionator was applied to count neurons. Only neurons containing a centrally located nucleolus, a distinctive nucleus, visible cytoplasm, presence of dendritic processes, and larger cell body size were counted. The counting frame (30 x 30 μm) was applied to all animals and guard zones of 2 μm at the top and bottom of the sections were used. A statistical repeated analysis of variance (ANOVA) with three factors of classification was applied using SPSS v.16.0 software (SPSS Inc. Chicago Illinois).

Results

Volume and number of neurons in sensory cortices

The volume and the number of neurons in each cortical area were estimated in the three animal groups. Results are shown in table 2.1. The stereological estimations of the number of neurons are illustrated in figure 2.1A. A two-way ANOVA (table 2.2) showed a very highly significant interaction between *Area* and *Group* ($P < 0.001$). The number of neurons in V1 was lower in ZRDCT/An mice compared to controls and enucleated mice ($P = 0.002$ and 0.007 respectively). The number of neurons in V2M was also lower in ZRDCT/An compared to control and enucleated mice ($P = 0.021$ and 0.007 respectively). There were no significant differences in the estimated number of neuron in all sensory areas between control and enucleated mice.

The volume estimations of each cortical area are given in table 2.1 and illustrated in figure 2.1B. The two-way ANOVA analysis is detailed in table 2.2. There was a highly significant interaction between *Area* by *Group* ($P < 0.001$). The volume of V1 was significantly smaller in ZRDCT/An mice compared to control and enucleated mice (table 2.1) ($P < 0.001$ and $= 0.001$ respectively). V2L was smaller in ZRDCT/An mice compared to control and enucleated mice ($P = 0.004$ and 0.003 respectively). V2M was smaller in ZRDCT/An compared to control and enucleated mice ($P < 0.001$ and $= 0.001$ respectively). AC was also smaller in ZRDCT/An mice compared to control and enucleated mice ($P = 0.015$ and 0.006 respectively). V1 was smaller in enucleated compared to intact mice ($P = 0.048$). The volume of AC, V2L and V2M were not statistically different between control and enucleated mice.

	Sampling Fraction	Mean number of sampled sections	Dissector Volume (μm^3)	Fraction Sampled	CE (F)	V (mm^3)	N (x 1000)
Control							
V1	1 / 5	8.75	8100	2020.06	0.04	2.28 ± 0.19	322.58 ± 36.66
V2L	1 / 5	8.75	8100	902.67	0.04	1.04 ± 0.05	132.91 ± 9.64
V2M	1 / 5	8.50	8100	928.93	0.05	0.90 ± 0.04	114.26 ± 8.56
AC	1 / 5	6.75	8100	1989.13	0.06	1.52 ± 0.20	185.89 ± 22.33
ZRDCT/An							
V1	1 / 5	7.00	8100	1483.92	0.05	1.04 ± 0.05	192.07 ± 9.33
V2L	1 / 5	7.00	8100	820.89	0.05	0.69 ± 0.09	114.57 ± 13.82
V2M	1 / 5	7.00	8100	696.70	0.06	0.52 ± 0.05	85.11 ± 9.87
AC	1 / 5	6.50	8100	1770.50	0.06	1.01 ± 0.05	159.28 ± 8.33
Enucleated							
V1	1 / 5	9.00	8100	2431.07	0.05	1.90 ± 0.13	299.82 ± 22.90
V2L	1 / 5	8.75	8100	778.64	0.04	1.05 ± 0.07	144.40 ± 10.23
V2M	1 / 5	9.00	8100	757.48	0.05	0.82 ± 0.05	121.26 ± 9.86
AC	1 / 5	7.00	8100	2401.11	0.06	1.62 ± 0.12	194.96 ± 15.41

Table 2.1: Overview of stereological sampling for each cortical area

Mean \pm SEM, V1 primary visual cortex, V2L secondary lateral visual cortex, V2M secondary medial visual cortex, AC primary auditory cortex, CE coefficient of error, V volume, N number of neuron.

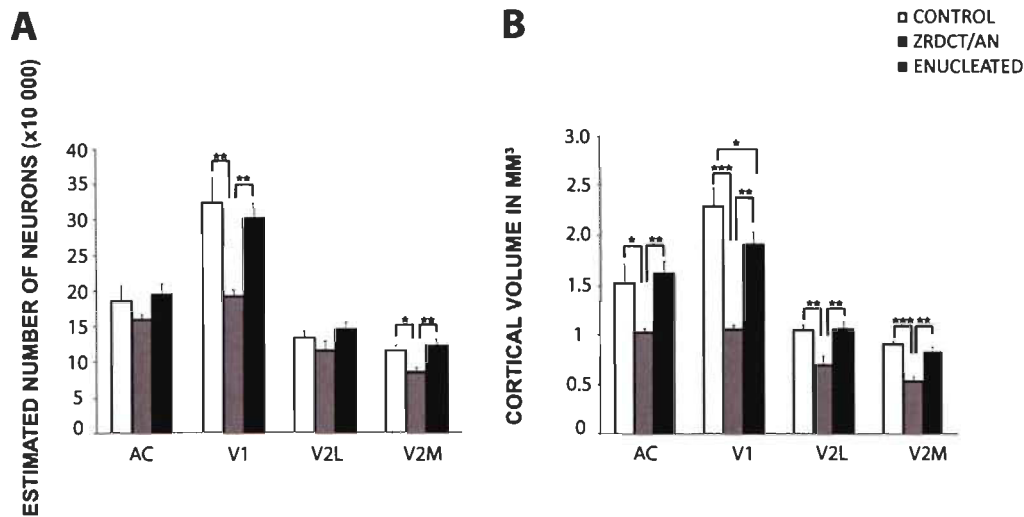


Figure 2.1 : Histograms of the distribution of the estimated total number of neurons *A* and cortical volumes in the auditory and visual cortices *B*

A The estimated number of neuron present in each cortical area for the three animal groups. *B* The estimated volume in mm^3 for each cortical area for the three animal groups. AC = primary auditory cortex; V1 = Primary visual cortex; V2L = Lateral secondary visual cortex; V2M = Medial secondary visual cortex. Significant differences are represented by asterisks: * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, *** $P < 0.001$.

STEREOLOGY ON CRESYL VIOLET				
Sources of variation	DF num	DF error	F	p
Mean volumes estimations				
AREA by GROUP	6	27	13.941	$p < 0.001^{***}$
AREA	3	27	174.250	$p < 0.001^{***}$
GROUP	2	9	18.783	$p = 0.01^{**}$
Total neuronal population estimations				
AREA by GROUP	6	27	0.097	$p < 0.001^{***}$
AREA	3	27	194.876	$p < 0.001^{***}$
GROUP	2	9	5.989	$p = 0.022^*$

Table 2.2: Two-way ANOVA table of significance levels for group and cortical area effects on cortical volume and total number of neurons

DF = degree of freedom, F = Mean square of *t* values, P = P value, * Significant; ** Highly significant; *** Very highly significant

Qualitative study of the distribution of the CBPs

The laminar distribution of PV immunoreactivity in the three animal groups is illustrated in figure 2.2 for V1 and AC and in figure 2.3 for V2L and V2M. In all sensory areas, the PV-ir neurons were found in all cortical layers (I through VI) but they were more abundant in layers IV and V. This distribution was the same in the three animal groups.

There were two types of CB-ir neurons: heavily and lightly stained cells. Heavily labeled neurons possessed non-pyramidal cell bodies. The laminar distribution of CB labeling in the three animal groups is illustrated in figure 2.4 for V1 and AC and in figure 2.5 for V2L and V2M. For all sensory areas, low levels of CB-ir were seen compared to the other CBPs. In all sensory areas, the CB-ir neurons were found in all cortical layers (I through VI) but they were more abundant in layers II/III and V. This laminar pattern of distribution is the same for the three animal groups.

The laminar distribution of CR in the three animal groups is illustrated in figure 2.6 for V1 and AC and in figure 2.7 for V2L and V2M. In all sensory areas, the CR-ir neurons were found in all cortical layers (I through VI) but they were more abundant in layers II/III. This laminar pattern of distribution is the same for the three animal groups.

The immunostaining for the CBPs in the LGN labeled only the neuropil as shown in figure 2.8. No CBP-ir neurons were found therein. For PV and CB, the labeling is uniformly distributed in the LGNd and LGNv and there is no difference between the three animal groups. For CR, the staining was more intensive in control group compared to ZRDCT/An and enucleated mice in the LGNd. There was no difference in the intensity in the staining of the LGNv between the three animal groups.

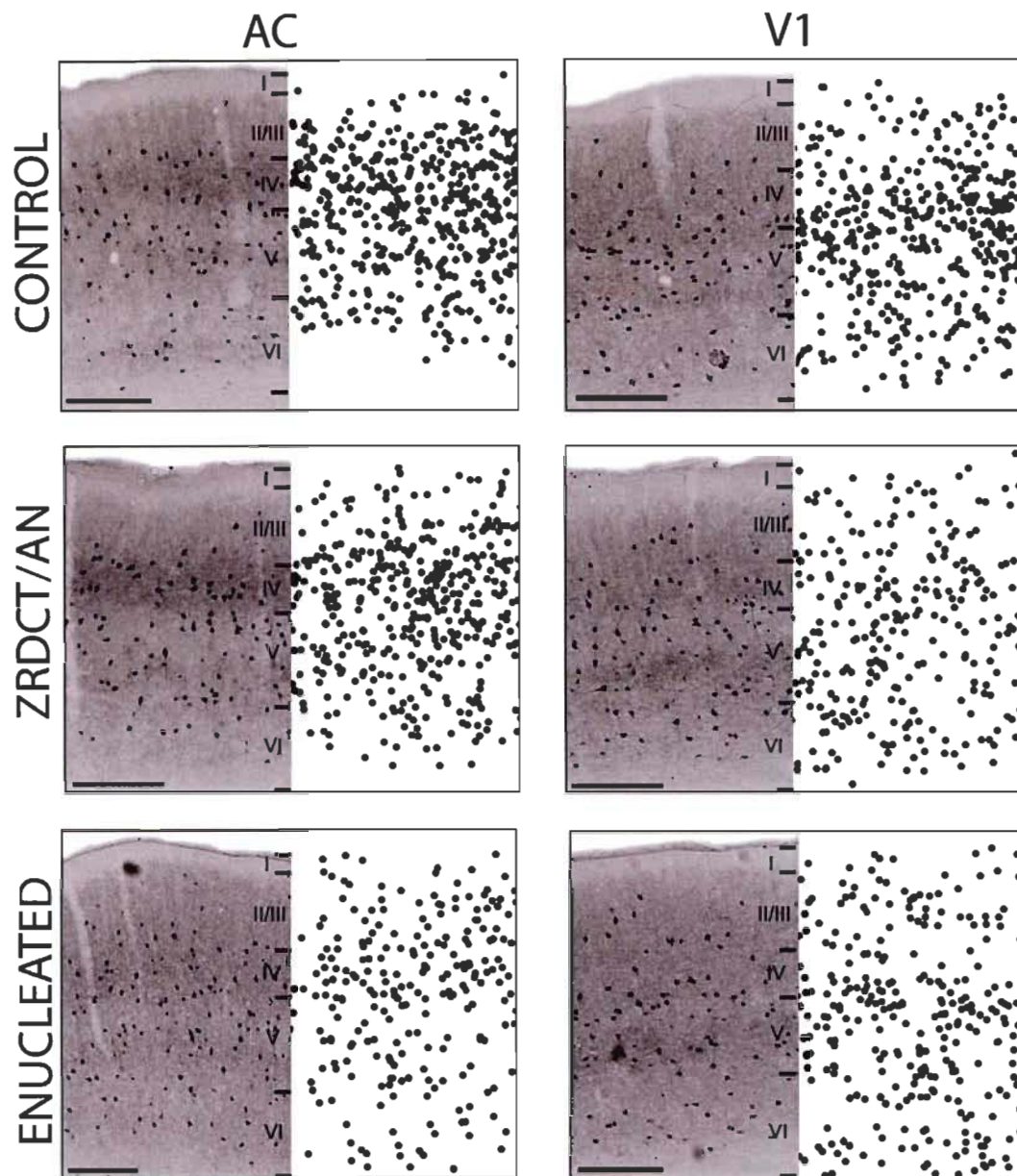


Figure 2.2 : Laminar distribution of Parvabumin-immunoreactive (PV-ir) neurons in the primary visual cortex (V1) and the primary auditory cortex (AC) in the three animal groups

Left panels show photomicrograph of the distribution of PV immunoreactivity with laminar boundaries and the right panels show the distribution of PV-ir neurons plotted from four to five superimposed sampled sections (one dot represents one neuron). Pial surface of the cortices are at the top. Scale bars 200 μ m.

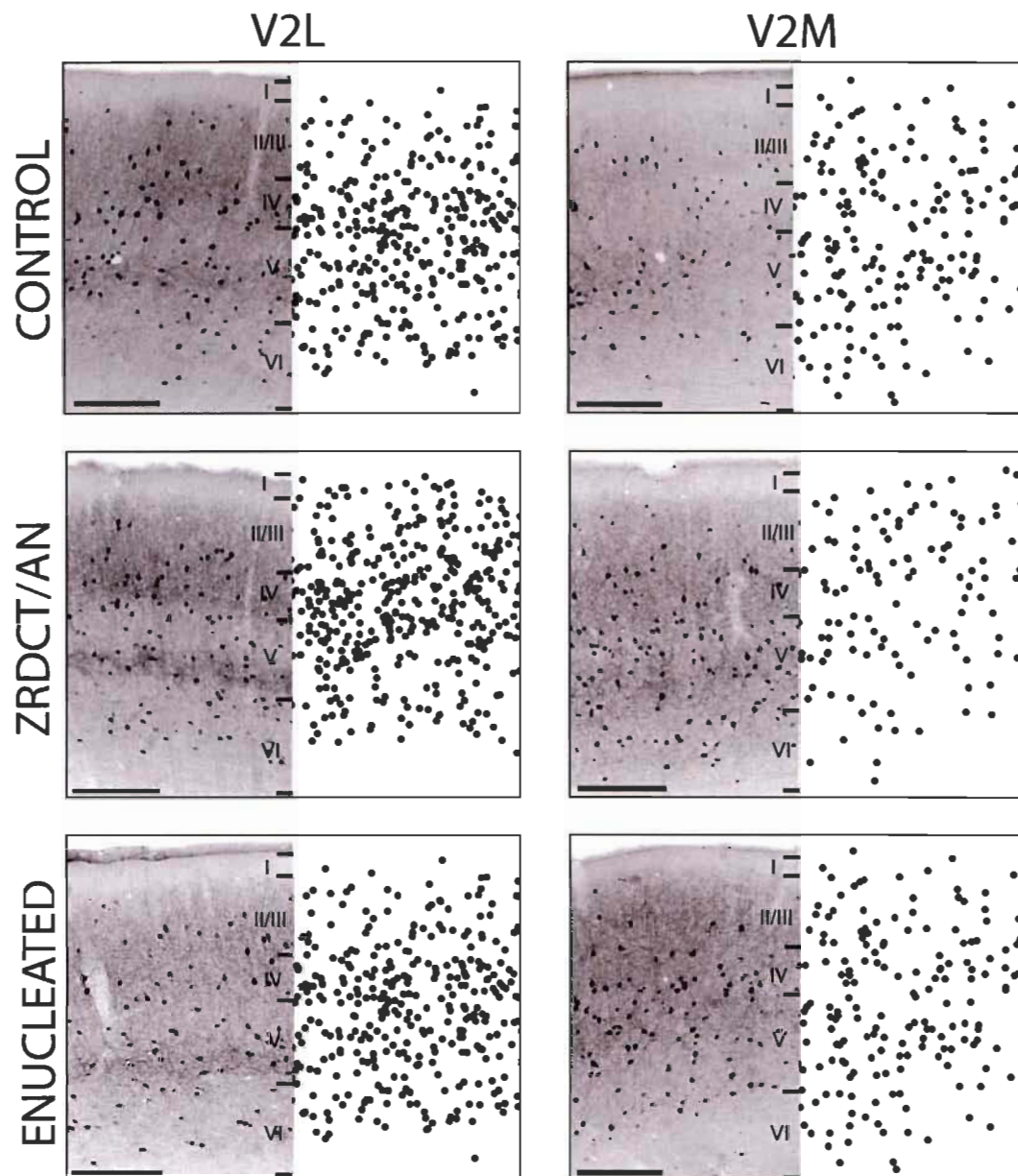


Figure 2.3 : Laminar distribution of Parvabumin-immunoreactive (PV-ir) neurons in the lateral (V2L) and the medial (V2M) secondary visual cortices in the three animal groups

Left panels show photomicrograph of the distribution of PV immunoreactivity with laminar boundaries and the right panels show the distribution of PV-ir neurons plotted from four to five superimposed sampled sections (one dot represents one neuron). Pial surface of the cortices are at the top. Scale bars 200 μ m.

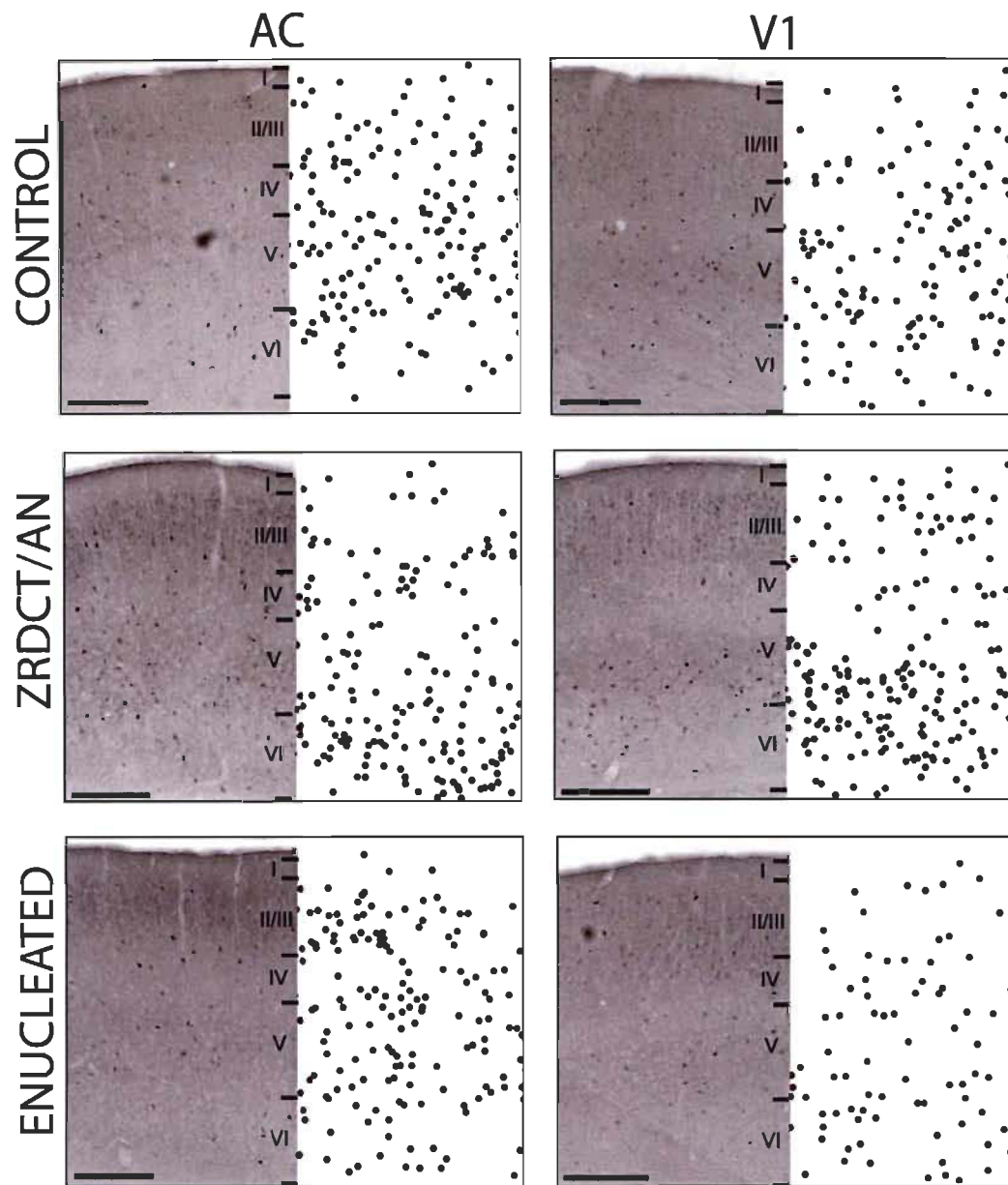


Figure 2.4 : Laminar distribution of Calbindin-immunoreactive (CB-ir) neurons in the primary visual cortex (V1) and the primary auditory cortex (AC) in the three animal groups

Left panels show photomicrograph of the distribution of CB immunoreactivity with laminar boundaries and the right panels show the distribution of CB- neurons plotted from four to five superimposed sampled sections (one dot represents one neuron). Pial surface of the cortices are at the top. Scale bars 200 μm.

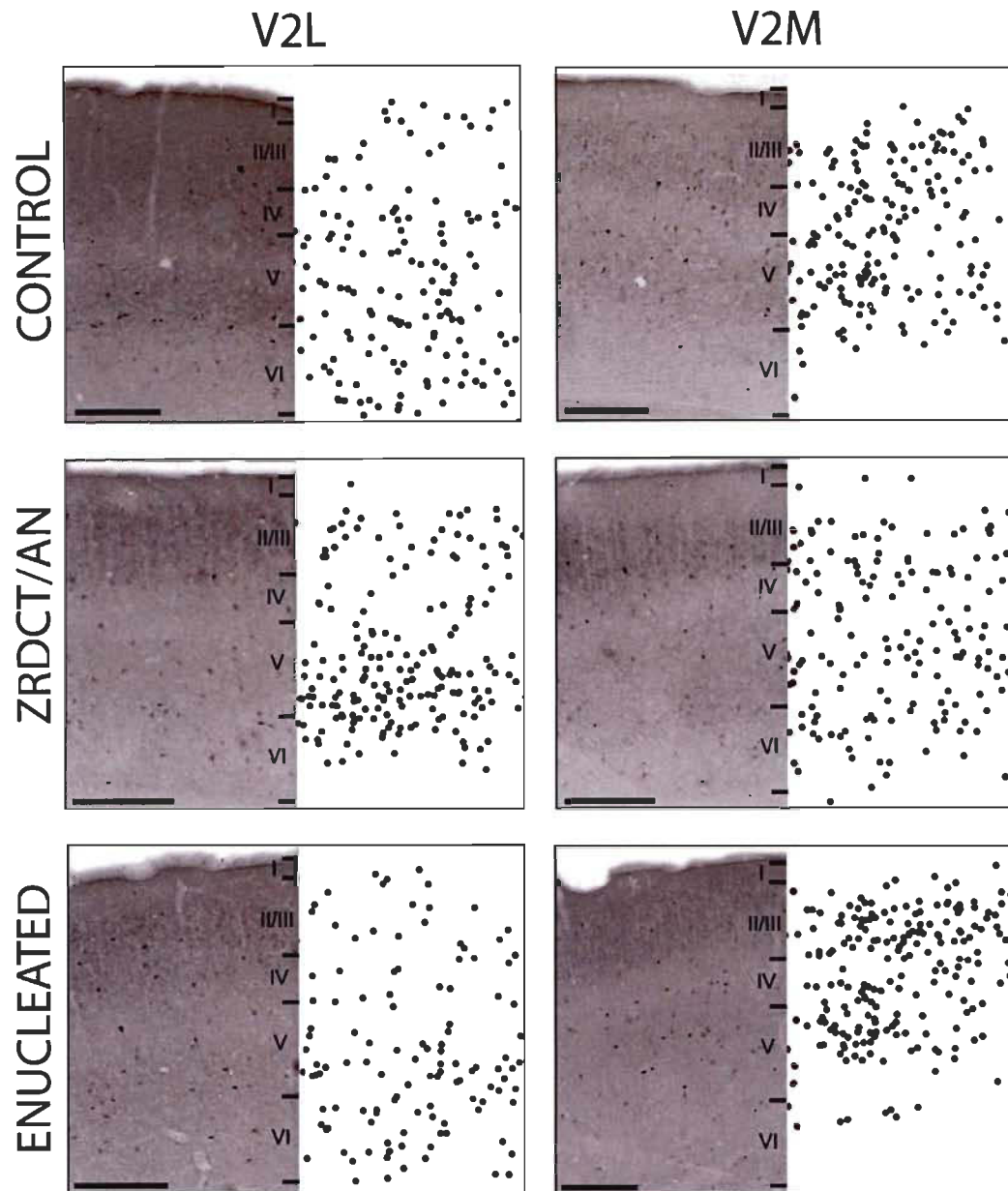


Figure 2.5 : Laminar distribution of Calbindin-immunoreactive (CB-ir) neurons in the lateral (V2L) and the medial (V2M) secondary visual cortices in the three animal groups

Left panels show photomicrograph of the distribution of CB immunoreactivity with laminar boundaries and the right panels show the distribution of CB-ir neurons plotted from four to five superimposed sampled sections (one dot represents one neuron). Pial surface of the cortices are at the top. Scale bars 200 μ m.

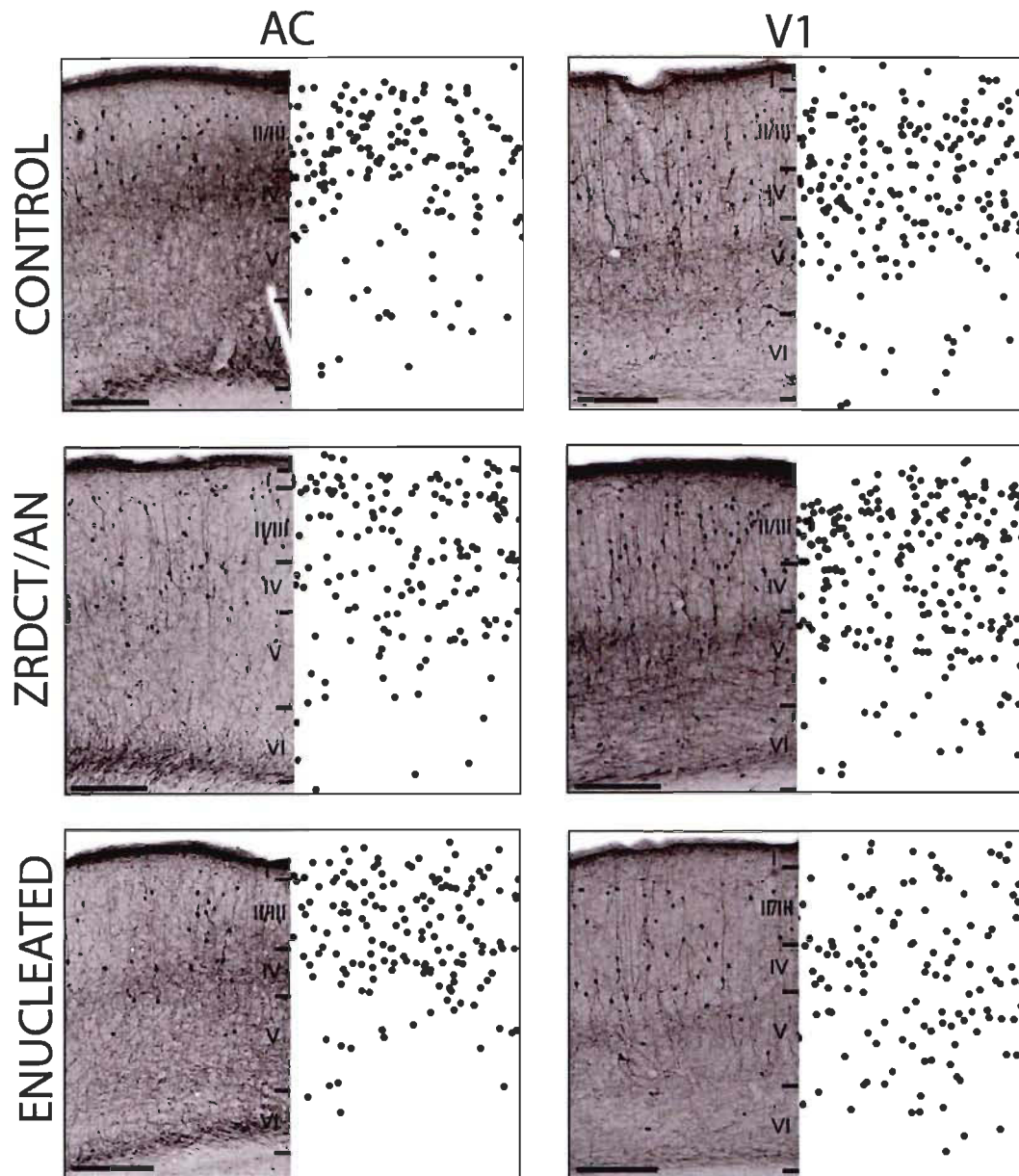


Figure 2.6 : Laminar distribution of Calretinin-immunoreactive (CR-ir) neurons in the primary visual cortex (V1) and the primary auditory cortex (AC) in the three animal groups

Left panels show photomicrograph of the distribution of CR immunoreactivity with laminar boundaries and the right panels show the distribution of CR-ir neurons plotted from four to five superimposed sampled sections (one dot represents one neuron). Pial surface of the cortices are at the top. Scale bars 200 μm.

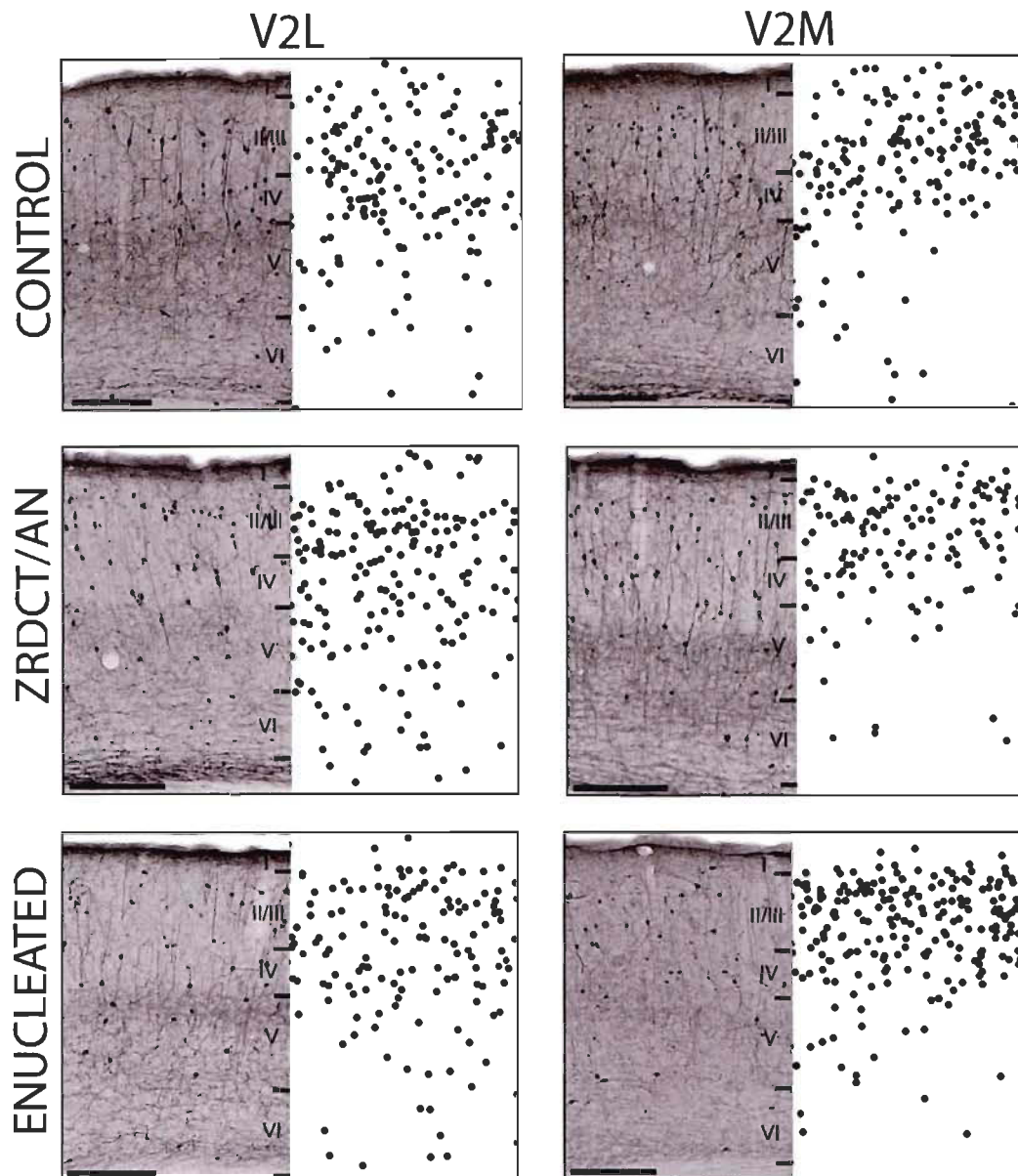


Figure 2.7 : Laminar distribution of Calretinin-immunoreactive (CR-ir) neurons in the lateral (V2L) and the medial (V2M) secondary visual cortices in the three animal groups

Left panels show photomicrograph of the distribution of CR immunoreactivity with laminar boundaries and the right panels show the distribution of CR-ir neurons plotted from four to five superimposed sampled sections (one dot represents one neuron). Pial surface of the cortices are at the top. Scale bars 200 μ m.

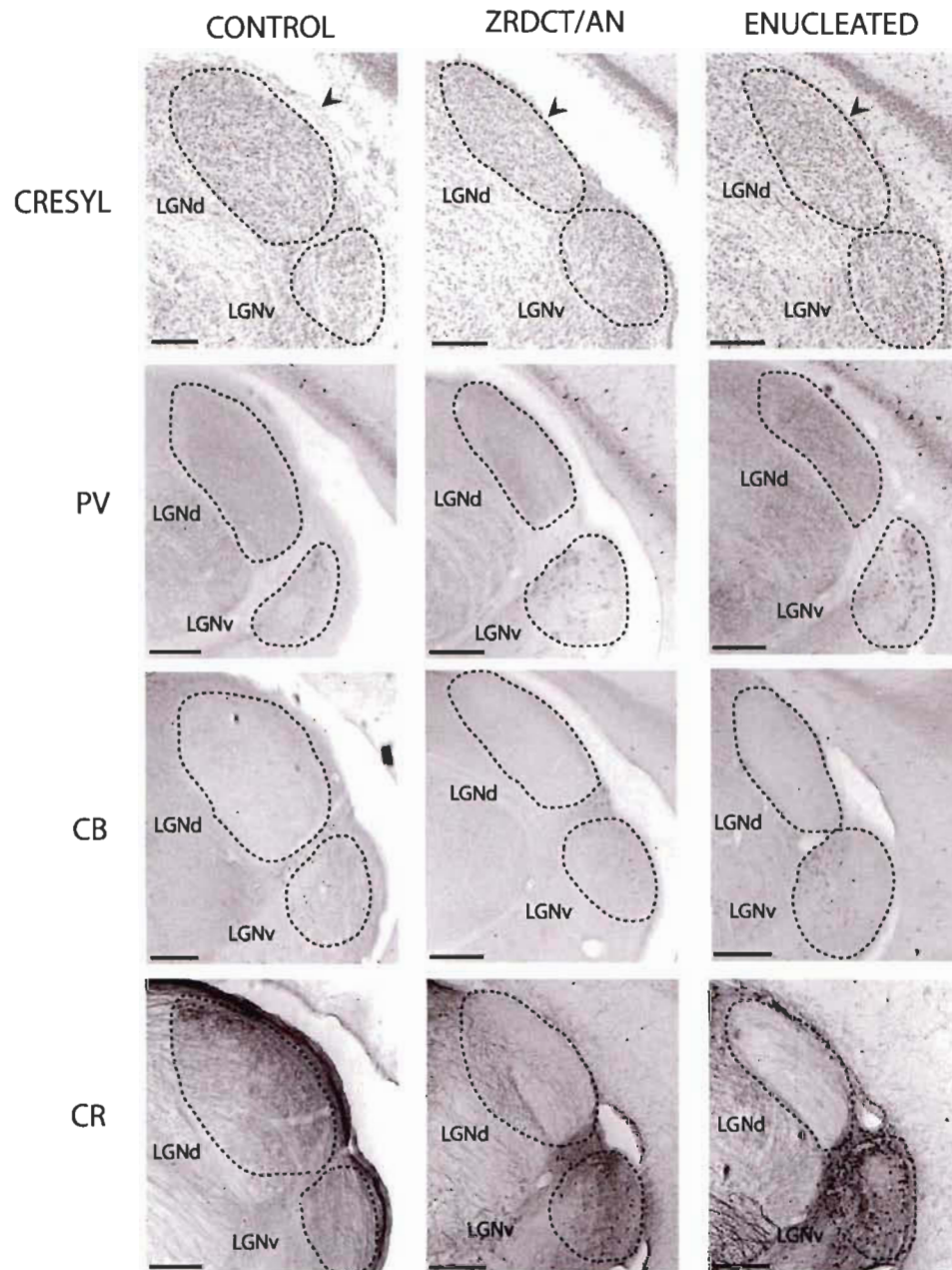


Figure 2.8 : Immunostaining for the Calcium Binding Proteins (CBP) in the lateral geniculate nucleus (LGN) in the three animal groups

PV= Parvalbumin; CB = Calbindin; CR= Calretinin; LGNd= Lateral Geniculate Nucleus; LGNv= Lateral Geniculate Nucleus. Microphotographs show a representative case. The arrowheads show retinal fibers present in the control group and absent in the enucleated and ZRDCT/An groups. Scale bars 200 μ m.

Quantitative study of the distribution of the CBPs

The mean total number of CBP-ir cells counted is given in table 2.3. A three-way analysis of variance (table 2.4) did not reveal triple interaction between *Area*, *Layer* and *Group* for the three proteins studied. However the analysis did show significant interactions between *Area* and *Layer* and between *Layer* and *Group*, therefore the decomposition of the double interaction of interest (*Area* by *Layer*), is warranted for each CBP.

There were more PV-ir neurons in V1 of the ZRDCT/An mice compared to control and enucleated mice ($P =$ of 0.048 and 0.042 respectively in layer II/III, 0.008 and 0.027 respectively in layer IV and 0.004 and 0.007 respectively in layer V). There were more PV-ir neurons in layer VI of ZRDCT/An mice compared to control mice ($P = 0.042$). No significant differences were found in the laminar distribution of PV-ir cells in V1 between control and enucleated mice. In both V2L and V2M, there were no statistical differences in the laminar distribution of PV between the three animal groups, more numerous PV-ir neurons were found in the AC of ZRDCT/An mice compared to control and enucleated mice ($P =$ of 0.030 and 0.007 respectively in layer IV and 0.015 and 0.006 respectively in layer V). Finally, there are more PV-ir neurons in layer VI in ZRDCT/An group compared to the enucleated group only with a P value of 0.017. No differences were found in the laminar distribution of PV-ir cells between control and enucleated mice in AC.

CB-ir neurons, were found in all cortical layers (figure 2.10). They were mainly located in layers II/III and V in all four sensory cortices. In V1, more CB-ir neurons were found in ZRDCT/An mice compared to control and enucleated mice in both layer V ($P = 0.045$ and 0.039 respectively) and in layer VI ($P < 0.001$ for both groups). No significant differences were found in the laminar distribution of CB-ir cells between control and enucleated mice in V1. In both secondary visual cortices, V2L and V2M, there is no statistical difference in the laminar distribution of CB between the three animal groups. More numerous CB-ir neurons were found in layer V of the AC, in the ZRDCT/An mice

compared to the enucleated mice ($P = 0.012$). Finally, there were more CB-ir neurons in layer VI in ZRDCT/An mice compared to control and enucleated mice ($P = 0.009$ and $.0.002$ respectively). No statistical differences were found in the laminar distribution of CB-ir cells in AC between control and enucleated mice.

CR-ir neurons were found in all cortical layers (figure 2.11) but are mainly located in layers II/III in all four cortical areas. More numerous CR-ir neurons were found in layers II/III ($P = 0.006$ and 0.010 respectively) and in layer V ($P = 0.003$ and 0.009 respectively) of V1, in ZRDCT/An mice compared to control and enucleated mice. Finally, there were more CR-ir neurons in layer VI in ZRDCT/An mice compared to control mice ($P = 0.036$). No differences were found in the laminar distribution of CR-ir cells between control and enucleated mice in V1. In both secondary visual cortices, V2L and V2M no differences in the laminar distribution of CR were found between the three mice groups. More numerous CR-ir neurons were found in layers II/III of the AC in ZRDCT/An mice compared to enucleated mice ($P = 0.013$). Finally, there were more CR-ir neurons in layer V in ZRDCT/An mice compared to control and enucleated mice ($P = 0.019$ and 0.011 respectively). No differences were found in the laminar distribution of CR-ir cells between control and enucleated mice in the AC.

PVir NEURONS BY MM ³ OF CORTEX				CBir NEURONS BY MM ³ OF CORTEX			CRir NEURONS BY MM ³ OF CORTEX		
	CONTROL	ENUCLEATED	ZRDCT/AN	CONTROL	ENUCLEATED	ZRDCT/AN	CONTROL	ENUCLEATED	ZRDCT/AN
LAYER I									
V1	0.00 ± 0.00	1.46 ± 1.69	0.00 ± 0.00	6.41 ± 3.30	14.96 ± 10.53	11.20 ± 6.83	73.87 ± 27.59	61.54 ± 25.78	137.59 ± 50.26
V2M	7.64 ± 8.82	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	22.16 ± 9.29	11.97 ± 6.07	12.55 ± 4.95	56.22 ± 10.98	87.77 ± 31.87	65.98 ± 38.96
V2L	0.00 ± 0.00	7.98 ± 5.94	0.00 ± 0.00	6.95 ± 2.70	7.98 ± 5.94	4.62 ± 5.34	75.30 ± 15.04	67.46 ± 22.25	47.08 ± 13.47
AC	2.72 ± 1.88	0.37 ± 1.58	0.00 ± 0.00	7.13 ± 6.00	4.06 ± 2.81	6.66 ± 7.69	82.34 ± 21.98	46.72 ± 5.00	115.37 ± 75.71
LAYER II/III									
V1	480.08 ± 57.24	489.30 ± 134.68	794.43 ± 102.50	416.06 ± 34.67	657.98 ± 210.15	731.71 ± 103.28	1141.22 ± 111.25	1229.59 ± 285.51	2017.87 ± 159.02
V2M	577.32 ± 84.01	734.51 ± 84.48	813.67 ± 210.59	742.92 ± 139.81	897.86 ± 66.91	828.11 ± 72.62	1497.24 ± 308.76	1966.96 ± 207.86	2253.00 ± 375.90
V2L	874.80 ± 82.30	883.74 ± 219.48	966.23 ± 256.21	820.29 ± 160.97	876.73 ± 170.58	919.77 ± 144.45	1550.61 ± 216.12	1450.16 ± 268.39	2090.97 ± 286.64
AC	543.91 ± 54.96	352.05 ± 71.03	430.39 ± 90.15	745.72 ± 224.98	614.14 ± 137.12	694.24 ± 71.86	1234.08 ± 247.19	791.67 ± 82.80	1472.84 ± 174.11
LAYER IV									
V1	840.53 ± 139.51	1027.29 ± 319.81	1699.98 ± 82.99	403.46 ± 78.71	407.64 ± 146.22	409.38 ± 62.44	604.52 ± 119.34	768.02 ± 253.65	748.81 ± 69.50
V2M	658.86 ± 133.66	942.11 ± 182.85	815.68 ± 110.56	504.72 ± 72.91	584.80 ± 120.17	619.12 ± 66.00	794.06 ± 250.18	1032.02 ± 211.69	1249.69 ± 218.93
V2L	978.14 ± 224.08	1125.69 ± 221.24	1428.10 ± 190.17	488.98 ± 58.32	394.47 ± 94.44	421.29 ± 25.49	675.91 ± 135.41	662.46 ± 137.33	701.63 ± 153.58
AC	1251.56 ± 282.97	1028.88 ± 98.64	1866.54 ± 153.58	486.66 ± 116.46	475.48 ± 67.87	469.68 ± 62.22	666.37 ± 189.21	565.98 ± 139.68	676.53 ± 28.67
LAYER V									
V1	1483.36 ± 142.20	1638.93 ± 415.85	2945.85 ± 259.81	841.89 ± 105.34	817.31 ± 1.000	1458.98 ± 251.36	338.82 ± 73.71	402.25 ± 114.81	755.89 ± 60.57
V2M	1527.01 ± 362.13	1775.13 ± 442.55	1789.52 ± 45.67	1195.29 ± 264.66	1161.02 ± 100.09	1664.40 ± 1.000	562.84 ± 257.01	659.01 ± 150.74	1011.06 ± 153.85
V2L	2087.07 ± 313.99	2329.40 ± 501.28	2819.22 ± 539.99	1103.67 ± 173.78	1051.11 ± 228.74	1388.47 ± 343.83	491.62 ± 95.96	598.97 ± 133.34	757.74 ± 101.68
AC	1465.93 ± 338.42	1245.37 ± 200.71	2623.80 ± 378.94	941.18 ± 234.84	725.70 ± 102.78	1467.88 ± 213.60	377.64 ± 131.36	344.24 ± 71.71	680.71 ± 13.59
LAYER VI									
V1	921.22 ± 105.50	1041.51 ± 294.11	1553.00 ± 181.30	327.55 ± 34.13	310.28 ± 75.20	846.39 ± 82.40	164.43 ± 8.73	184.53 ± 54.32	293.82 ± 50.03
V2M	838.58 ± 168.82	920.60 ± 269.99	696.53 ± 90.63	374.15 ± 146.37	449.01 ± 47.00	565.02 ± 64.61	305.77 ± 121.57	222.48 ± 26.48	307.63 ± 38.78
V2L	1105.24 ± 277.90	1217.61 ± 263.56	1491.30 ± 211.37	546.25 ± 187.96	463.02 ± 74.25	877.00 ± 211.72	212.46 ± 66.07	212.84 ± 40.27	311.23 ± 53.24
AC	903.72 ± 242.81	622.80 ± 25.61	1268.21 ± 192.55	452.10 ± 85.72	343.23 ± 91.81	801.40 ± 79.35	154.93 ± 55.81	120.86 ± 39.34	207.29 ± 20.13

Table 2.3 : Laminar distribution of the number of neurons immunoreactive for the different Calcium Binding Proteins (CBP)

Mean ± SEM of numbers of immunoreactive cells per mm³ of cortex in each layer for Parvalbumin (PVir), Calbindin (CBir) and Calretinin (Crir). AC = primary auditory cortex; V1 = Primary visual cortex; V2L = Lateral secondary

PVir NEURONS				
Sources of variation	DF num	DF error	F	p
AREA by LAYER by GROUP	24	108	1.359	p = 0.146
AREA by LAYER	12	108	5.495	p = < 0.001***
LAYER by GROUP	8	36	6.622	p = < 0.001***
AREA by GROUP	6	27	1.924	p = 0.113
AREA	3	27	4.518	p = 0.011*
GROUP	2	9	5.102	p = 0.033*
Total PVir populations				
AREA by GROUP	6	27	1.924	p = 0.113
AREA	3	27	4.518	p = 0.011*
GROUP	2	9	5.102	p = 0.033*

CBir NEURONS				
Sources of variation	DF num	DF error	F	p
AREA by LAYER by GROUP	24	108	0.959	p = 0.525
AREA by LAYER	12	108	4.171	p = < 0.001***
LAYER by GROUP	8	36	3.880	p = 0.002**
AREA by GROUP	6	27	0.660	p = 0.683
AREA	3	27	3.165	p = 0.041*
GROUP	2	9	2.827	p = 0.112
Total CBir populations				
AREA by GROUP	6	27	0.660	p = 0.683
AREA	3	27	3.165	p = 0.041*
GROUP	2	9	2.827	p = 0.112

CRir NEURONS				
Sources of variation	DF num	DF error	F	p
AREA by LAYER by GROUP	24	108	1.197	p = 0.261
AREA by LAYER	12	108	6.156	p = < 0.001***
LAYER by GROUP	8	36	5.252	p = < 0.001***
AREA by GROUP	6	27	1.007	p = 0.441
AREA	3	27	10.994	p = < 0.001***
GROUP	2	9	4.668	p = 0.041*
Total CRir populations				
AREA by GROUP	6	27	1.318	p = 0.283
AREA	3	27	10.114	p = < 0.001***
GROUP	2	9	6.737	p = 0.016*

Table 2.4 : Three-way ANOVA analysis of significance levels for area, layer and group effects on the distribution of number of CBP-ir neurons

*DF = degree of freedom, F = Mean square of t values, P = P values, * Significant; ***

*Highly significant; *** Very highly significant*

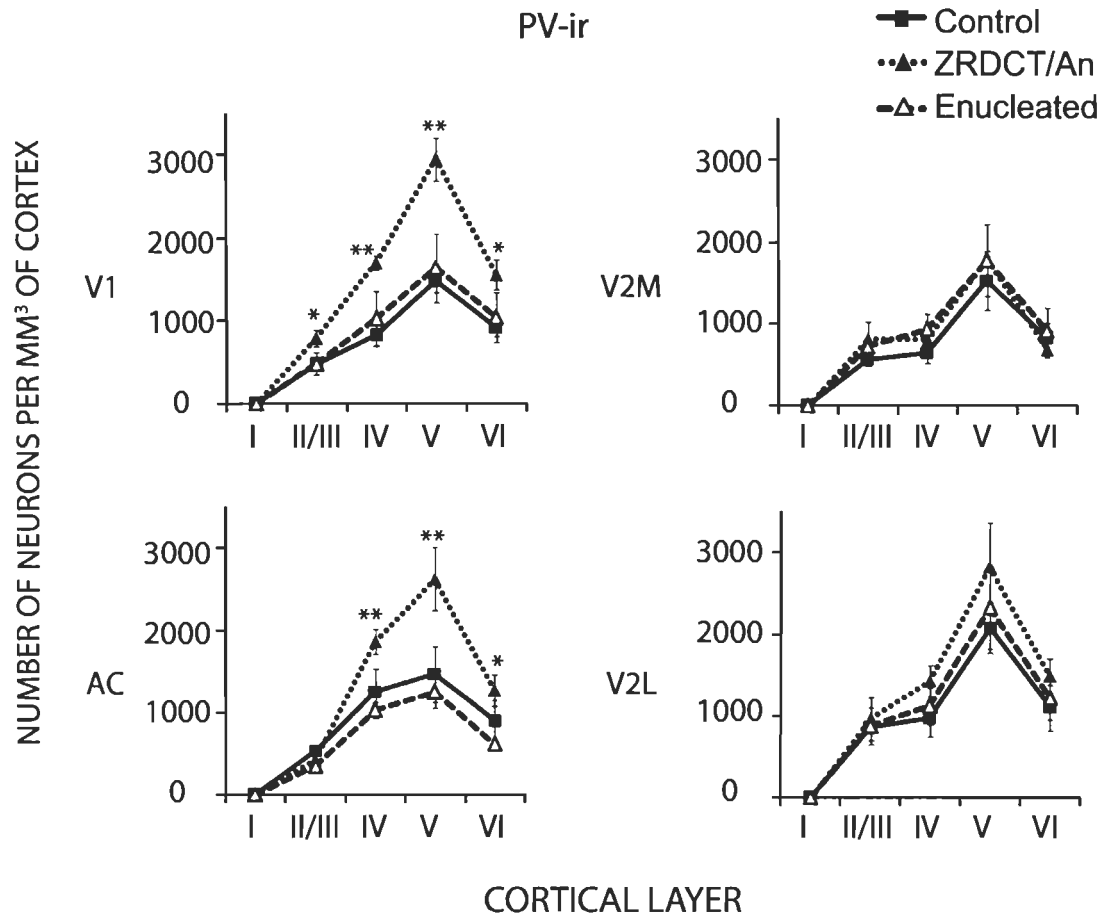


Figure 2.9 : Laminar distribution of Parvalbumin (PV-ir) neurons in the three animal groups

*Number of PV-ir cells expressed bu mm³ of cortex by layer in the three animal groups. AC = primary auditory cortex; V1 = Primary visual cortex; V2L = Lateral secondary visual cortex; V2M = Medial secondary visual cortex. Squares and triangles represent the mean number of PV-ir neurons by mm³ and the error bars represent the SEM. Significant differences are represented by asterisks: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.*

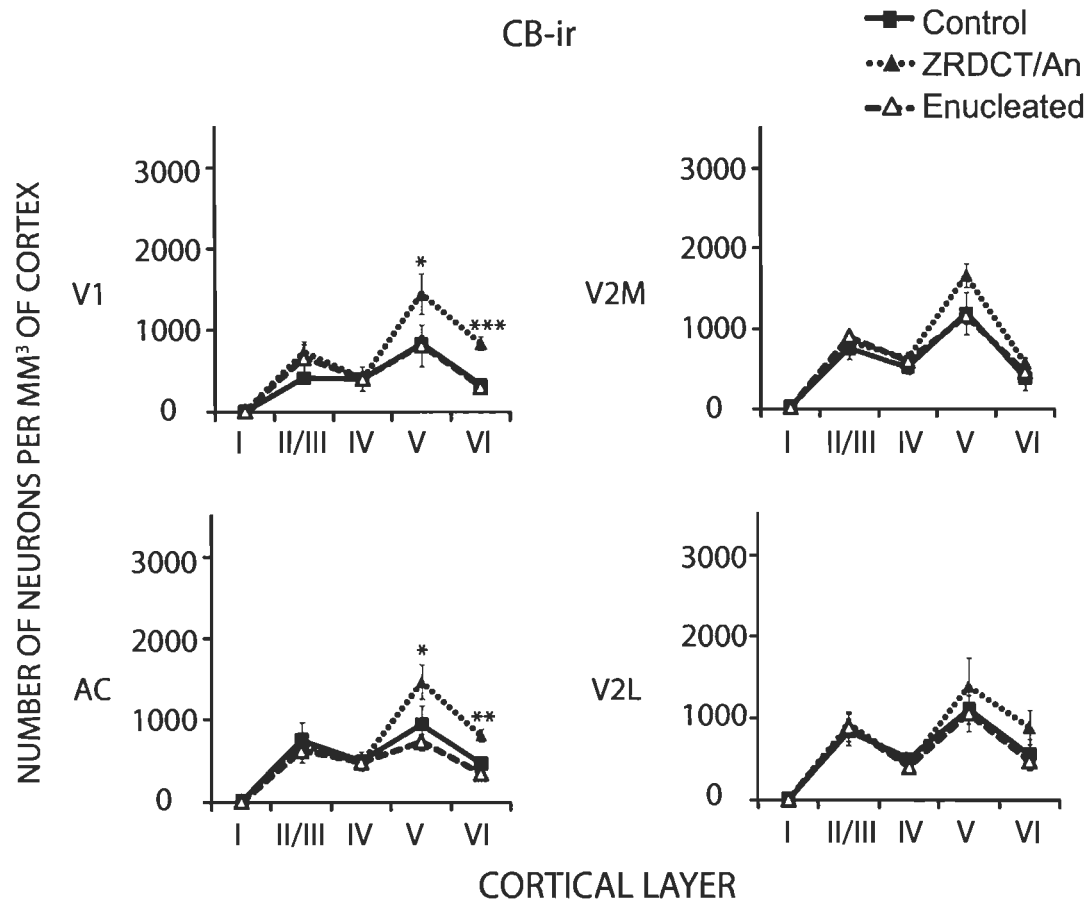


Figure 2.10 : Laminar distribution of Calbindin (CB-ir) neurons in the three animal groups

*Number of CB-ir cells expressed bu mm³ of cortex by layer in the three animal groups. AC = primary auditory cortex; V1 = Primary visual cortex; V2L = Lateral secondary visual cortex; V2M = Medial secondary visual cortex. Squares and triangles represent the mean number of CB-ir neurons by mm³ and the error bars represent the SEM. Significant differences are represented by asterisks: *P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001.*

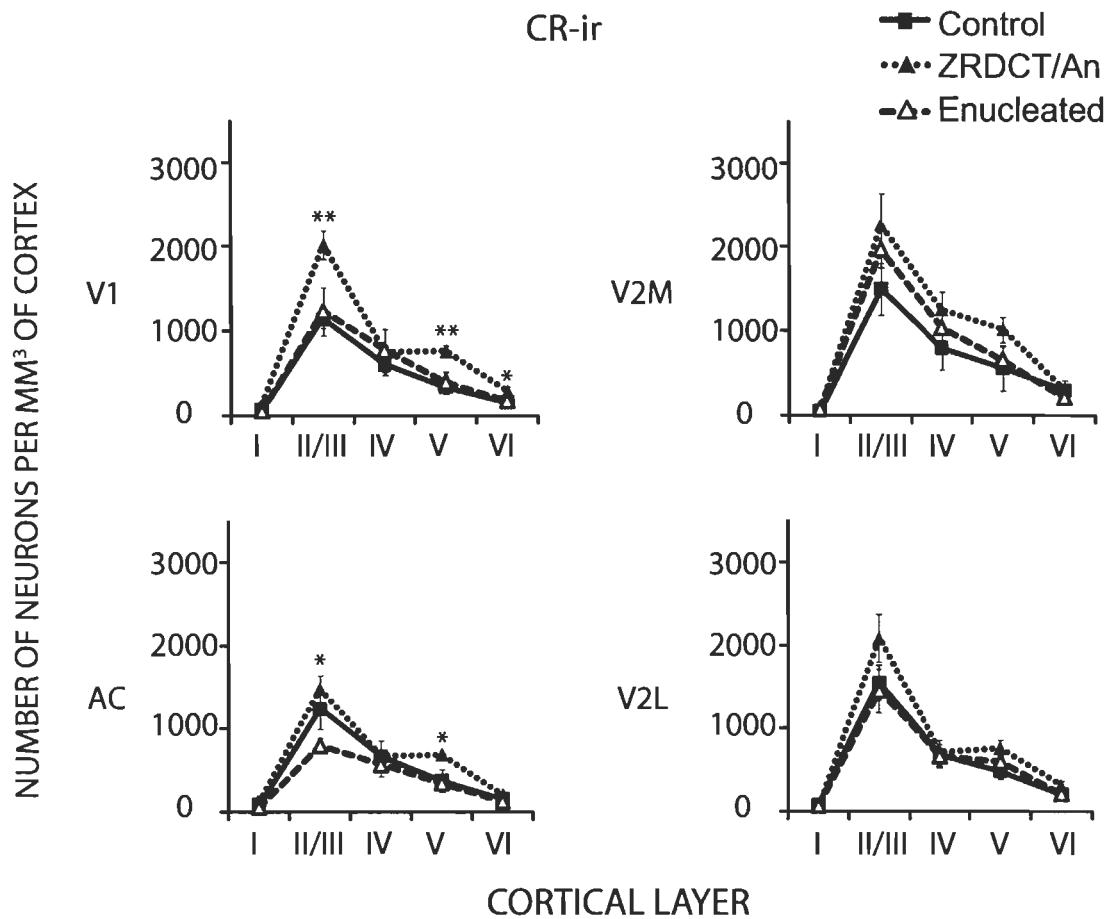


Figure 2.11 : Laminar distribution of Calretinin (CR-ir) neurons in the three animal groups

*Number of CR-ir cells expressed bu mm³ of cortex by layer in the three animal groups. AC = primary auditory cortex; V1 = Primary visual cortex; V2L = Lateral secondary visual cortex; V2M = Medial secondary visual cortex. Squares and triangles represent the mean number of CR-ir neurons by mm³ and the error bars represent the SEM. Significant differences are represented by asterisks: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.*

Comparisons in the laminar distribution of the CBPs between V1 and AC

A three way ANOVA analysis of variance was performed to compare the laminar distribution of the CBPs between the four cortical areas within each animal group. Table 2.5 shows *P* values of V1 and V2L, V2M and AC. The comparisons between AC and V1 in the three animal groups are emphasized. Figure 2.12 illustrates the laminar distribution of the three CBPs within each group. Only V1 and AC were compared.

Within the C57BL/6 mice, there were more PV-ir neurons found in layer IV in AC than in V1 ($P = 0.025$). Therefore, it is possible to distinguish V1 from AC on the basis of the density of PV-ir neurons within layer IV. In these mice there were more CB-ir neurons in layer II/III and layer VI of AC than V1 ($P = 0.031$ and 0.019 respectively). There were also more CB-ir neurons in layer II/III in V2L and V2M compared to V1 ($P = 0.028$ and 0.032 respectively). It is possible, on the basis of the density of the CB-ir neurons within layer II/III to differentiate V1, V2L, V2M and AC. There was no significant difference in the laminar distribution of the CR within the control group between V1 and all others sensory cortices.

In the enucleated mice, there are significant differences between V1 and AC in the number of PV-ir and CR-ir but not for CB-ir neurons. There were less PV-ir neurons in layer VI of AC compared to V1 ($P = 0.038$). There were no significant differences in the laminar distribution of the CB-ir neurons within the enucleated group between V1 and all others sensory cortices. CR-ir neurons were less numerous in layers II/III of the AC compared to V1 ($P = 0.041$). There were more CR-ir neurons in layers II/III of V2M compared to V2 ($P = 0.041$).

As was observed in the enucleated mice, there were significant differences of the number of PV-ir and CR-ir but not for CB-ir neurons between V1 and AC in ZRDCT/An mice. Less numerous PV-ir neurons were found in layers II/III of the AC compared to V1 ($P = 0.002$). There were more PV-ir neurons in V1 compared to V2M in layer IV, V and VI with ($P = 0.003$, 0.039 and 0.006 respectively). There were no

significant differences in the laminar distribution of CB-ir neurons within the enucleated group between V1 and all others sensory cortices. CR-ir neurons were less numerous in layers II/III in AC compared to V1 ($P = 0.018$). There were more CR-ir neurons in V1 compared to V2L in layer I ($P = 0.036$). There were less CR-ir neurons in V1 compared to V2M in layer IV ($P = 0.007$).

		PVir NEURONS			CBir NEURONS			CRir NEURONS		
		CONTROL	ENUCLEATED	ZRDCT/AN	CONTROL	ENUCLEATED	ZRDCT/AN	CONTROL	ENUCLEATED	ZRDCT/AN
LAYER I										
	V2M	0.123	0.752	1.000	0.132	0.761	0.890	0.658	0.513	0.096
	V2L	1.000	0.055	1.000	0.936	0.313	0.340	0.970	0.875	0.036*
	AC	0.129	0.967	1.000	0.906	0.101	0.465	0.744	0.570	0.400
LAYER II/III										
	V2M	0.477	0.094	0.886	0.032*	0.096	0.474	0.280	0.041*	0.467
	V2L	0.088	0.088	0.426	0.028*	0.189	0.253	0.205	0.481	0.813
	AC	0.471	0.140	0.002**	0.031*	0.741	0.778	0.634	0.045*	0.018*
LAYER IV										
	V2M	0.434	0.710	0.003**	0.396	0.153	0.098	0.222	0.101	0.007*
	V2L	0.583	0.693	0.290	0.318	0.874	0.886	0.624	0.473	0.745
	AC	0.025*	0.992	0.305	0.398	0.488	0.536	0.671	0.186	0.621
LAYER V										
	V2M	0.924	0.767	0.029*	0.190	0.201	0.431	0.186	0.135	0.137
	V2L	0.255	0.198	0.805	0.346	0.397	0.795	0.128	0.059	0.984
	AC	0.962	0.301	0.392	0.382	0.729	0.973	0.470	0.470	0.354
LAYER VI										
	V2M	0.737	0.624	0.006**	0.623	0.164	0.013	0.084	0.614	0.854
	V2L	0.421	0.440	0.734	0.193	0.351	0.848	0.308	0.540	0.704
	AC	0.921	0.038*	0.133	0.019*	0.471	0.331	0.825	0.161	0.068

Table 2.5 : P values for comparisons of V1 with other visual and auditory cortices

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

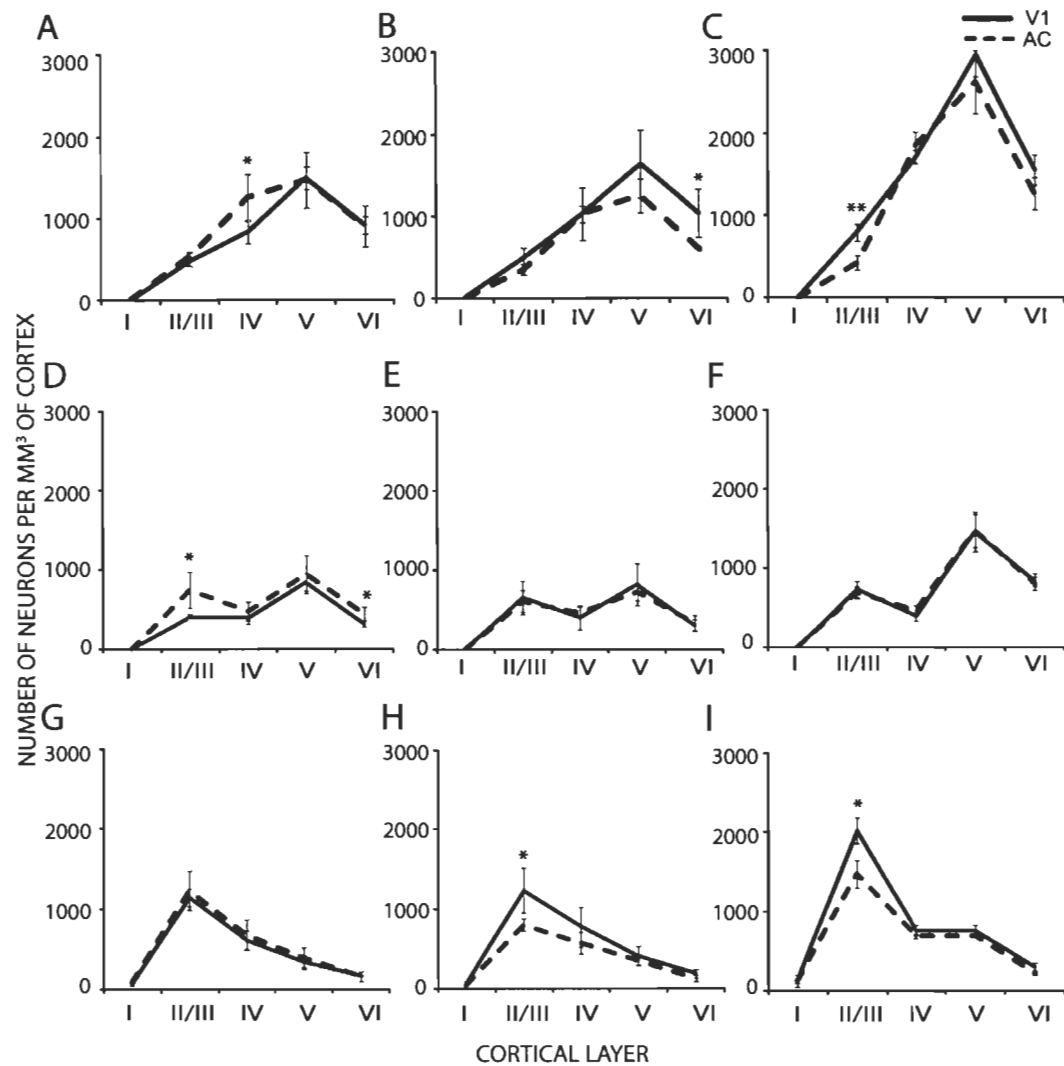


Figure 2.12 : Comparisons between the primary visual cortex (V1) and the primary auditory cortex (AC)

A laminar distribution of the number of Parvalbumin immunoreactive (PV-ir) neurons per mm³ of cortex for control group; *B* for enucleated group; *C* for ZRDCT/AN group. *D* laminar distribution of the number of Calbindin immunoreactive (CB-ir) neurons per mm³ of cortex for control group; *E* for enucleated group; *F* for ZRDCT/AN group. *G* laminar distribution of the number of Calretinin immunoreactive (CR-ir) neurons per mm³ of cortex for control group; *H* for enucleated group; *I* for ZRDCT/AN group. Deflection points represent the mean number of CBP-ir neurons by mm³ and the error bars represent the SEM. Significant differences are represented by asterisks: **P* < 0.05, ***P* < 0.01.

Results expressed by number of CBP-ir cells by total number of neurons

The ratios between the total number of CBP-ir cells within each sensory area and the total number of neurons, as determined by stereological sampling, were calculated in order to determine whether blindness has a general effect on the excitatory and inhibitory balance in the cortex. A two-way ANOVA analysis of variance was applied. Results are shown in table 2.6. There were no significant *Group* differences and no interactions between *Area* by *Group*. Significant differences were found in these ratios between *Areas*. Figure 2.13 shows the results for the ratios for all four sensory areas in each animal group. The ratios were not different between control, enucleated and ZRDCT/An mice in all sensory areas.

RATIO OF PVir NEURONS / TOTAL NEURONAL POPULATION				
Sources of variation	DF num	DF error	F	p
AREA by GROUP	6	27	0.933	p = 0.488
AREA	3	27	5.921	p = 0.003**
GROUP	2	9	2.423	p = 0.144

RATIO OF CBir NEURONS / TOTAL NEURONAL POPULATION				
Sources of variation	DF num	DF error	F	p
AREA by GROUP	6	27	0.372	p = 0.890
AREA	3	27	7.330	p = 0.001**
GROUP	2	9	1.147	p = 0.292

RATIO OF CRir NEURONS / TOTAL NEURONAL POPULATION				
Sources of variation	DF num	DF error	F	p
AREA by GROUP	6	27	0.644	p = 0.695
AREA	3	27	8.458	p = <0.001***
GROUP	2	9	2.130	p = 0.175

Table 2.6 : Two-way ANOVA analysis for the ratio number of CBP-ir cells by total number of neurons study

(DF = degree of freedom, F = Mean square of t values, P = P value, ** Highly significant; *** Very highly significant)

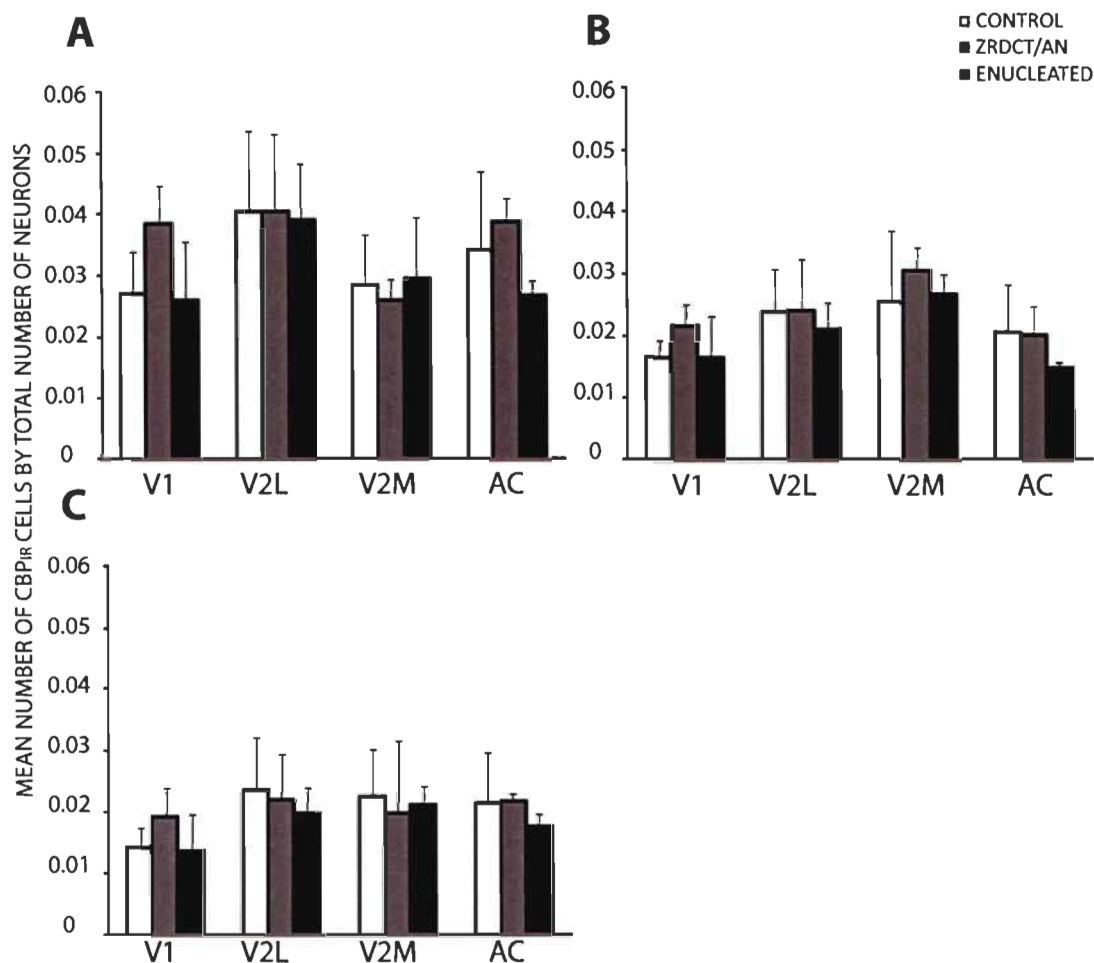


Figure 2.13 : Ratios of Calcium binding Proteins immunoreactive neurons (CBP-ir) by the total number of neurons in the three animal groups

AC = primary auditory cortex; V1 = Primary visual cortex; V2L = Lateral secondary visual cortex; V2M = Medial secondary visual cortex. A represents ratio for Parvalbumin (PV). B represents ratio for Calretinin (CR). C represents ratio for Calbindin (CB). Histograms represent the mean number of CBP-ir neurons by total number of neurons and the error bars represent the SEM.

Discussion

Volume and number of neurons in sensory cortices

Stereological analysis shows that all studied sensory areas in ZRDCT/An mice are smaller than in the C57BL/6 control mice. Although the entire brain of the ZRDCT/An strain is 15% smaller than the C57BL/6 strain, the 55% volume reduction of V1 is greater than the 42% reduction of V2M and the 33% reduction of both for V2L and AC. The volume reduction of V1 of the C57BL/6 enucleated mice is less marked than for ZRDCT/An mice. Our results show a significant 17% reduction in the volume of V1 in the enucleated mice compared to control mice, and a non-significant 9% reduction of V2M and a non-significant 1% increase of V2L and 7% of AC.

Our results are in agreement with several studies showing a clear relationship between the size of cortical areas and the sensory periphery. A 40% reduction of V1 is reported for mutant microphthalmic rats in which the optic nerves are absent as in the ZRDCT/An mouse (Sugita and Otani, 1984). A study also demonstrate, despite no change in the overall size of the neocortex of bilaterally enucleated opossums, a significant 51% reduction of the volume of V1 compared to control animals (Karlen and Krubitzer, 2008). Similar results were found following congenital or early blindness in mammals, primates and humans (Dehay et al., 1989; Rakic et al., 1991, 1996; Karlen et al., 2006; Krubitzer, 2007; Pan et al., 2007; Ptito et al., 2008). The auditory activity found in V1 of the ZRDCT/An mice or the blind mole rat cannot maintain the normal volume of V1 (Doron and Wollberg, 1994; Bronchti et al., 2002; Piché et al., 2004; Chabot et al., 2007).

In regard to the significant 17% reduction in the volume of V1 in enucleated mice, our results are in agreement with a study on the mouse enucleated at birth that demonstrate a 17% reduction of V1 (Heumann and Rabinowicz, 1982). Monocular enucleation of the hamster also results in a significant reduction in the volume of V1 contralateral to the

lesion (Trevelyan and Thompson, 1995; Trevelyan et al., 2007). However, a recent study on bilaterally enucleated hamsters failed to show a significant reduction in the volume of V1 despite a 7% decrease compared to control hamsters (Desgent et al., unpublished results). Bilateral neonatal enucleation of the opossum also results in a volume reduction of V1 (Kahn and Krubitzer, 2002). Dark rearing seems to have the same effect. Indeed, V1 of dark-reared kitten is reduced by 39% compared to control animals (Takacs et al., 1992). All these results support the contention that loss of vision reduces the volume of V1. These reductions of the primary visual cortex cannot be caused solely by absence of the retina or the consecutive reduction of thalamo-cortical afferents but also by the absence of sensory activity as demonstrated by the effects of dark-rearing.

The stereological analysis demonstrates significant reductions of the number of neurons of 40% of V1 and of 26% of V2M in the ZRDCT/An mice compared to control mice and non-significant 14% reductions of both areas V2L and AC. The sensory areas of the ZRDCT/An mouse are also smaller compared to enucleated C57BL/6 mouse with reductions of 36% of V1 and 30% of V2M, and non-significant 21% reduction of V2L and 18% reduction of AC. All these reductions are commensurate with the 15% smaller brain of the ZRDCT/An mice compared to C57BL/6 mice. Nonetheless it appears that the number of neurons in V1 is significantly reduced in blind mice and that this reduction is more important following the earlier loss of the visual periphery in the anophthalmic mice than following neonatal enucleation. In both models there is also a significant reduction of the number of neurons in V2M and a slight but non significant reduction of the number of cells in V2L and AC. These results clearly demonstrate a time dependent effect on the number of neurons in visual cortices following loss of the eyes.

Specific cytoarchitectonic features of V1 in the ZRDCT/An mice are still easily recognizable namely, the thick conspicuous layer IV, layer V with two hypocellular zones separated by a more conspicuous layer with bigger neurons as described in the normal mouse (Caviness, Jr., 1975). Our results are in agreement with a study comparing the cytoarchitecture of V1 between an anophthalmic and eyed ZRDCT mouse, showing that visual deprivation does not seem to modify the cytoarchitecture nor

the number of spine and dendrite (Kaiserman-Abramof, 1979) and with a study on the microphthalmic rat where the cytoarchitecture is also conserved in V1 (Sugita and Otani, 1984).

There were no significant differences in the total number of neurons between enucleated and control mice. A non-significant 7% reduction of V1 and non-significant increase of 9% of V2L, 6% of V2M and 5% of AC. The enucleation does not seem to reduce the total number of neurons nor does it alter the cytoarchitecture of V1 compared to control mice. This is in agreement with a study on enucleated mice where no significant difference in the number of neurons in V1 was found in adults with a similar cytoarchitecture compared to control (Heumann and Rabinowicz, 1982). Similar results were also demonstrated in monocular eyelid sutured monkey, in neonatal bilaterally enucleated hamsters and in dark reared kitten (O'Kusky and Colonnier, 1982; Takacs et al., 1992; Desgent et al., unpublished results). According to these results, the visual deprivation does not influence the total number of neurons in V1 or the cytoarchitecture whatever the method used for deprivation.

This study illustrates differences in the volume and the total number of neurons in all sensory areas studied between the ZRDCT/An strain and the C57BL/6 strain with slightly more effects on V1. These reductions are in part attributable to the 15% smaller brain of the anophthalmic mouse compared to control.

Qualitative study of the distribution of the CBPs

Qualitatively, the distribution of PV-, CB- and CR-ir cells seems to be similar in all the studied cortical areas regardless of strain or enucleation. In V1 PV-ir cells are scattered throughout all six layers but more abundant in layers IV and VI. A similar distribution was described in mice, hamsters, rats and rabbits (Gonchar and Burkhalter, 1997; Park et al., 1999, 2000; Desgent et al., 2005). In AC, PV-ir cells are found in all cortical layers but, more abundant in layers IV and V. Similar results were found in the hamsters, mice, rabbits, cats, monkeys and humans (Hendry and Jones, 1991; Wallace et al., 1991;

Morino-Wannier et al., 1992; McMullen et al., 1994; Glezer et al., 1998; Cruikshank et al., 2001; Chiry et al., 2003; Clemo et al., 2003). In V1, CB-ir cells are found in all six layers but mostly in layers II/III and V. A similar distribution was described in mice, rats and hamsters (Gonchar and Burkhalter, 1997; Park et al., 2002; Desgent et al., 2005). In AC, CB-ir cells are also found in all six layers but mostly found in layers II/III and V. These results are in agreement with similar studies on hamsters, mice, rats and humans (Friauf, 1994; Cruikshank et al., 2001; Chiry et al., 2003; Desgent et al., 2005). In V1 CR-ir neurons are found in all cortical layers but are mainly located in layers II/III. The same distribution was reported in the hamsters, mice, cats, rabbits, monkeys and human (Glezer et al., 1992; Luth et al., 1993; Yan et al., 1995; Hof et al., 1996; Gonchar and Burkhalter, 1997; Jeon and Park, 1997; Meskenaite, 1997; Park et al., 1999, 2002; Gonchar and Burkhalter, 2003; Desgent et al., 2005). In AC, CR-ir neurons are also present in all cortical layers but are more abundant in layers II/III. The same results were found in the hamsters, macaque monkeys, bottlenose dolphin, cats and human (Glezer et al., 1998; Chiry et al., 2003; Clemo et al., 2003; Desgent et al., 2005). There are no studies on the distribution of CBPs in V2L and V2M. Maybe differences exist but are too subtle to be appreciated qualitatively. They also confirm that our immunohistochemical method is reliable.

In the visual thalamus, PV is expressed only in neuropil and fibers in the LGNd. In the LGNv, only a few labeled cells were observed whereas almost no neuropil and labeled fibers were found. This staining pattern was similar in all animal groups. Similar labelling was found in rats and humans (Arai et al., 1994; Munkle et al., 2000). Only light CB labeling was found in the LGNd neuropil and fibers whereas a few scattered cells were observed in the LGNv. The staining was similar in the three animal groups. The same pattern was described the LGN of rats and humans (Arai et al., 1994; Munkle et al., 2000). Neither enucleation nor anophthalmia seems to have an effect on the PV and CB expression in the LGN of these mice. However, monocular enucleation of adult rhesus monkeys results in the depletion of CB and PV immunoreactive fibers in the LGNd of the deafferented side (Gutierrez and Cusick, 1994). There was intensely stained CR-ir fibers and neuropil in the LGNd and almost no CR-ir cells in the LGNV of

the control mice. This distribution is similar to what is found in rats, monkeys and humans (Arai et al., 1992, 1994; Fortin et al., 1996; Munkle et al., 2000; Soares et al., 2001). In both the anophthalmic and enucleated mice, there was very faint CR neuropil labeling in the LGNd whereas some CR-ir cells were found in the LGNv as opposed to control mice. Our results are in agreement with a study on dystrophic rats that suffer of degeneration of photoreceptors. In this animal model, a significant loss of CR-ir fibers in the LGN and the superior colliculus (SC) is observed (Vugler and Coffey, 2003). Furthermore, an increased number of CR-ir neurons is reported in the SC (Vugler and Coffey, 2003). Similar results were also reported in enucleated rats (Arai et al., 1992, 1993). All these results support the contention that CR is a reliable marker of retinal axons, in the thalamus and the midbrain (Arai et al., 1993; Gobersztejn and Britto, 1996).

Quantitative study of the distribution of the CBPs

The increase in the density of PV-ir cells in the ZRDCT/An mouse is at odds with previous studies showing a reduction of the number of PV-ir cells following sensory deprivations (Chattopadhyaya et al., 2004; Jiao et al., 2006; Sanchez-Vives et al., 2006; Tropea et al., 2006). Although a reduction of the number of PV-ir cells is generally observed following sensory deprivations, the effects on the expression of CB and CR is not as clear. Dark-rearing of cats resulted in a decrease of the total number of CR-ir neurons but did not affect the expression of CB in cortical areas 17 and 18 (Sanchez-Vives et al., 2006). However the total CB mRNA in the primary visual cortex of dark-reared mice, is significantly reduced whereas no difference can be found regarding the CR mRNA (Tropea et al., 2006). Our results for the ZRDCT/An mice could be explained by a strain difference or by the auditory and the somatosensory activity found in V1. It is clearly demonstrated that in this strain, the IC become a source of ectopic auditory fibers in the LGN and provides auditory activity to V1 (Piché et al., 2004; Chabot et al., 2007, 2008). It is surprising to find an increase of CBP-ir neuron density in AC because the auditory activity that reaches AC is not altered.

In the light of the studies on PV expression following sensory deprivation cited above, a reduction of PV-ir neurons should be expected in enucleated mice. However, we found no differences in the laminar distribution of the three CBPs between enucleated and control groups. Is enucleation at birth too late to alter the expression of PV? It is not likely the case as neonatal whisker trimming in the rat induces a reduction in the number of PV-ir neurons when the deprivation occurs before the first week of life. However, if the deprivation occurs between P15 and P30, the expression of PV was not altered compared to non-deprived animals (Jiao et al., 2006). As opposed to anophthalmic mice, there is no auditory activity in V1 of enucleated mice (Chabot et al., 2007) and we do not find any increase in the number of CBP-ir neurons therein. Our results show that visual deprivation induces a compensatory increase in the number of CBP-ir cells in the ZRDCT/An mice that may be related to the redirection of auditory activity to V1.

Comparisons in the laminar distribution of the CBPs between V1 and AC

In C57BL/6 mice, the distribution of PV-ir cells is different in AC and V1 in that the density of PV-ir neurons is higher in layer IV of AC compared to that of V1. The same difference was also found between these cortical areas in hamsters (Desgent et al., 2005). This disparity disappeared in the blind mice. In both blind groups, PV-ir neuron density in layer IV of V1 is similar to AC. The distribution of CB-ir neurons also differs between V1 and AC in the normal mouse: the densities of CB-ir neurons in layer II/III and VI are higher in AC as compared to V1. In hamsters, CB-ir expression is higher in layer V of V1 compared to AC. (Desgent et al., 2005). In enucleated and ZRDCT/An mice, the distribution of CB-ir neurons is similar in V1 and AC.

GABAergic cortical circuits are known to play an important role in the fine tuning of sensory receptive fields properties especially through PV positive basket cells located in layer IV of primary sensory areas and that sensory deprivation leads to changes in the expression of PV in these cells (Hensch and Fagiolini, 2005; Jiao et al., 2006; Tropea et al., 2006). Our results suggest that the shaping of the laminar distribution of PV-ir cells is not only dependent upon levels of sensory activity but also influenced by sensory

modality. In ferrets, lesion of the IC, the superficial layers of the SC and the brachium of SC prevent auditory activity to reach the medial geniculate nucleus (MGN), the auditory thalamic nucleus. Such lesions lead to retinal fibers reaching the deprived MGN (Sur et al., 1988; Angelucci et al., 1998). In these cross-modal rewired animals visual information activates AC. The distribution and morphology of PV-ir and CB-ir neurons were different in AC compared to control ferrets suggesting that sensory experience shape the morphology of the PV-ir and CB-ir cells (Pallas, 2001).

The increase of the number of PV-ir and CB-ir neurons in enucleated mice and ZRDCT/An mice may be an immature pattern of CBPs expression. Study on the developmental expression of PV and CB in ferret reveals that these proteins are overexpressed in primary sensory cortices (V1 and AC) during the second through the third post natal week and express their adult pattern a few days before eye opening (Gao et al., 2000). Similar pattern of overexpression during early post-natal period in V1 was also described in human and rat for PV and CB (Alcantara et al., 1993; Letinic and Kostovic, 1998). A similar overexpression was also described in the barrel cortex of the mouse for CR (Melvin and Dyck, 2003). All these results suggest that CBP-ir neurons remain immature until late in the critical period for cortical plasticity and they play an important role in experience-dependant modification of cortical circuits. The CBPs higher densities in V1 and AC of the mutant anophthalmic and enucleated mice may reflect an immaturity of the cortical GABAergic system since no visual activity reaches V1 neither during pre- or post-natal period.

The distribution of CR-ir cells in control mice is not different in V1 and AC. This is commensurate with what was previously found in normal hamsters (Desgent et al., 2005). In our blind models, there is a significant decrease of CR-ir cells in layers II/III of AC as compared to V1. No similar results are described in the literature. The visual deprivation of V1 may lead to a reduction of the CR expression in layers II/III in AC. This reduction of inhibition in AC may facilitate the unmasking of cortico-cortical connections that exist from AC to V1 as proposed by Tropea et al. (Clarke and Innocenti, 1986; Innocenti et al., 1988; Falchier et al., 2002; Rockland and Ojima, 2003; Tropea et al., 2006; Hall and Lomber, 2008). One study of the normal ferret showed that

when the cortical inhibitory system in area 21 is pharmacologically blocked, more neurons respond to auditory-visual double stimulation than in control animals (Allman et al., 2008). This suggests that a reduction of the cortical inhibition can facilitate auditory activity to reach visual areas. Our results suggest that visual deprivation induces specific changes in the laminar distribution of CBPs in early and late onset at the same extend.

Results expressed by number of CBP-ir cells by total number of neurons

Finally we did not found significant difference in the ratio of the number CBP-ir neurons compared to the total number of neurons between the three animal groups. As describe above, the reduction of the total number of neurons found in the ZRDCT/An mouse seem to be attributable to the smaller brain of this mouse rather than sensory deprivation. It was proposed that sensory deprivation induces a downregulation of the expression of PV whereas the total number of GABAergic neurons remains unchanged (Jiao et al., 2006). Another study reports that deprivation does not change the total number of GABAergic neurons but there were slight reductions in layers IV's inhibitory populations (Micheva and Beaulieu, 1995). In the anophthalmic mice, since the number of CBP-ir neurons is increased in V1 and AC in specific layers and total number of neurons is reduced, we should find higher CBP/total number of neurons ratio for the three CBPs compared to control mice. However, it is not the case. This may be attributable to specific laminar redistribution of CBP-ir cells that are masked when the results are expressed regardless to the cortical layers. A more detailed stereological analysis should be done within each cortical layer to more adequately address this question.

Conclusion

This study demonstrates that visual deprivation induces a reduction of the volume of V1 in ZRDCT/An and enucleated mice despite a normal cytoarchitecture. Numerous modifications were observed in the distribution of CBP-ir neurons in V1 of blind mice.

The absence of visual activity may be only responsible for these changes observed in V1 of our two blind models but also the fact that this area respond to somatosensory stimuli in the enucleated mouse and to both somatosensory and auditory stimulation in the anophthalmic mutant. We demonstrate for the first time the effect of visual deprivation in two different models; the early and the late onset of blindness. Our results confirm the critical role of the sensory information in the shaping of the mature chemioarchitectural phenotype of a sensory area.

Acknowledgements

We are grateful to Mrs Rollande Caron and Nadia Desnoyers for their precious advice in regard to animal care and maintenance, Nicole Chabot for her technical advice and Miguel Chagnon for his counselling for the statistical analysis. This work was supported by grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada and from the Fonds Québécois de la Recherche sur la Nature et les Technologies. V. Boucher was supported by grants from the Fonds de Recherche en Santé du Québec.

CHAPITRE 3

DISCUSSION ET CONCLUSION

Depuis sa création, le laboratoire s'intéresse aux changements anatomiques et fonctionnels dans le cerveau de souris aveugles. Dans un premier temps, nous avons démontré une activation de la protéine c-fos dans V1, V2L et le CGLd chez la souris mutante ZRDCT/An suite à une stimulation auditive (Piche et al., 2004; Chabot et al., 2007). Cette activation pourrait être en partie expliquée par la présence de fibres ectopiques en provenance du CI atteignant le CGLd apparaissant vers P10 (Le Houillier et al., 2004; Piche et al., 2004; Chabot et al., 2007, 2008) mais aussi par le démasquage de connexions cortico-corticales intermodales. Récemment, nous avons mis en évidence que V1 était non seulement activé par une stimulation auditive mais également par une stimulation somesthésique (Tremblay et al., résultats non publiés).

Quant à la souris énuclée, nous n'avons pas mis en évidence une activité auditive significative dans V1. Par contre, on retrouve une activité auditive importante dans V2L et V2M. L'activation des aires visuelles secondaires uniquement peut être expliquée par l'absence de connections entre IC et le CGLd et la présence de fibres en provenance du CI atteignant LP activant ainsi V2L et V2M (Chabot et al., 2007).

Nous possédons donc deux modèles de souris aveugles; précoce et tardive. Ces deux modèles possèdent également différentes compensations sensorielles tant au point de vue anatomique que fonctionnel. Le cortex visuel des souris C57BL/6 intactes traite de l'information visuelle, celui des souris mutantes ZRDCT/An traite de l'information auditive et somesthésique, et celui des souris énuclées semble exempt d'activité sensorielle primaire. D'un point de vue cellulaire, est-ce que tous ces cortex possèdent les caractéristiques propres à un cortex visuel primaire? Une coloration au crésyl violet révèle que V1 des souris ZRDCT/An et énuclées ne semble pas différent de celui des souris contrôles (figure 3.1).

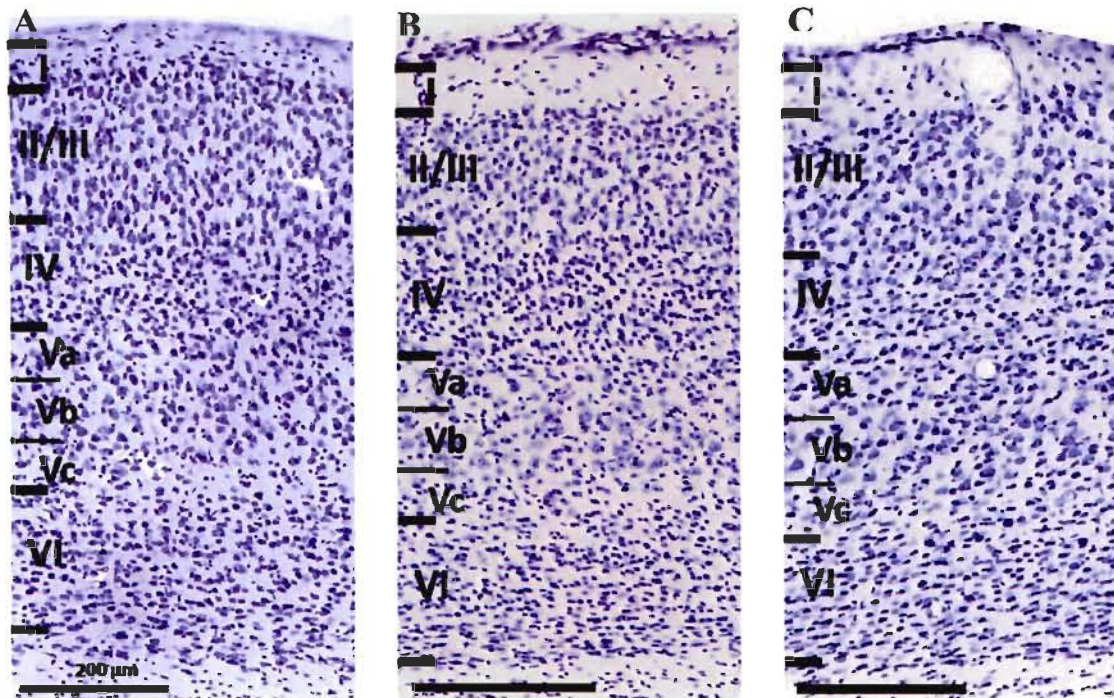


Figure 3.1 : Cytoarchitecture de l'aire visuelle primaire (V1) chez les trois modèles animaux

A : souris contrôle; B : souris mutante ZRDCT/An; C : souris énucléée. Les nombres en chiffres romains représentent les couches corticales. L'échelle est 200 µm.

Bien que le volume de V1 des souris aveugles soit inférieur à celui des souris contrôles, il conserve les caractéristiques cytoarchitectoniques propres à un cortex visuel primaire c'est-à-dire une couche IV épaisse et dense et une couche V subdivisée en trois sous couches soient : Va hypocellulaire, Vb plus dense contenant de plus gros neurones et Vc également hypocellulaire (Caviness, Jr., 1975). Il a également été décrit que V1 chez la souris ZRDCT/An conserve sa cytoarchitecture malgré quelques différences soit : une diminution de l'épaisseur des couches II, III et VI (Chase, 1945).

Il a déjà été démontré chez la souris et le hamster que l'énucléation ne modifie pas la cytoarchitecture de V1 (Desgent et al., résultats non publiés; Heumann and Rabinowicz, 1982). Il a cependant été proposé chez le singe que l'énucléation pré-natale entraîne un empiètement des aires visuelles extrastriées sur l'aire visuelle primaire (Dehay et al., 1996). Certains auteurs ont également mis en évidence, en périphérie du cortex visuel

primaire, une aire corticale dont la cytoarchitecture ne correspond ni à V1 ni à une aire visuelle secondaire. Cette « nouvelle » aire corticale a été nommée l'aire X. Elle a été démontrée chez le singe et l'opossum énucléés avant la naissance (Rakic et al., 1991; Kahn & Krubitzer, 2002). Donc, il semble que l'énucléation précoce perturbe la cytoarchitecture de V1 chez ces mammifères. Ce n'est pas le cas chez la souris ZRDCT/An et, chez la souris C57BL/6, l'énucléation le jour de sa naissance est déjà trop tardive. Cette étude a donc permis d'apporter de nouvelles réponses sur la cytoarchitecture de ces différents cortex visuels primaires. Nous savons maintenant que V1, chez la souris ZRDCT/An et la souris énucléée, conserve sa cytoarchitecture.

La cécité entraîne chez les deux modèles un patron de distribution des cellules GABAergiques qui, pour les cellules PV-ir et CB-ir semble effacer les différences observées chez la souris contrôle entre les aires auditive et visuelle primaires. Ces changements ne sont toutefois pas uniquement attribuables à la présence d'activité auditive dans V1 tel que nous l'avions proposé, mais plutôt secondaire à l'absence d'activité visuelle dans ce cortex puisque nous observons un effet semblable chez les souris énucléées, exemptes d'activité auditive dans V1, et chez les souris ZRDCT/An. Par effet semblable j'entends la disparition des différences entre les aires auditive et visuelle primaires et pas que la distribution des CBP est identique dans nos 2 modèles de cécité, car ce n'est pas le cas. Sur ce dernier point je reviendrai un peu plus loin. Les récentes observations dans notre laboratoire d'une activité somesthésique dans V1 des souris aveugles associée à la mise en évidence d'afférences provenant du cortex somatosensoriel primaire (Laramée et al., 2008; Tremblay et al., 2008) soulèvent la possibilité que le cortex visuel primaire pourrait même avoir une fonction associative qui n'a pas été prise en compte lors de l'étude présentée ici.

On observe également une diminution de l'expression de la CR dans AC chez la souris énucléée, diminution qui n'existe pas chez la souris anophtalmique. De plus, l'augmentation de l'expression des trois CBP dans le cortex visuel primaire chez la souris ZRDCT/An par rapport à la souris C57BL/6 nous porte à nous questionner sur la pertinence de comparer deux souches de souris différentes. Il est bien décrit dans la littérature que différentes souches de souris peuvent être distinctes de manière

significative dans leur comportement ainsi que dans la morphologie de certaines structures cérébrales (Le et al., 1998). Ainsi, nous ne pouvons pas avec certitude, rapporter les différences observées entre la souris contrôle C57BL/6 et la mutante anophtalme ZRDCT/An seulement à une perte de la vue précoce. Toutefois, il est intéressant de noter que les différences que nous avons trouvées entre ces souches dans la distribution des cellules CBP ne sont pas générales mais circonscrites aux aires visuelle et auditive primaires. En effet, pour toutes les CBP, leur distribution n'est aucunement différente entre la souris contrôle et la mutante dans les aires corticales visuelles secondaires V2L et V2M.

En conclusion, bien que de bagage génétique proche, la souris C57BL/6 ne serait peut-être pas le meilleur contrôle pour des fins de comparaisons cytoarchitecturales et cellulaire avec la souris ZRDCT/An. Nous proposons donc de faire un croisement entre les deux souches de souris afin de transposer la mutation du gène *Rx/Rax* dans un animal hybride. La mutation étant récessive, aucun animal de la première génération ne présentera le phénotype anophtalmique. Les hybrides seront croisés en retour (backcrossing) avec des souris mutantes ZRDCT/An afin d'obtenir, en moyenne en nombre égal, des souris contrôles et d'autres anophtalmiques possédant un bagage génétique semblable. Ces animaux C57BL/6 *Rx/Rax* anophtalmiques permettraient donc de comparer deux modèles de souris (aveugles et voyantes) ayant des caractéristiques morphologiques et cytoarchitecturales identiques.

BIBLIOGRAPHIE

Alcantara, S., Ferrer, I. (1994) "Postnatal development of parvalbumin immunoreactivity in the cerebral cortex of the cat", *J. Comp. Neurol.* 348:133-149.

Alcantara, S., Ferrer, I. (1995) "Postnatal development of calbindin-D28k immunoreactivity in the cerebral cortex of the cat", *Anat. Embryol. (Berl)* 192: 369-384.

Alcantara, S., Ferrer, I., Soriano, E. (1993) "Postnatal development of parvalbumin and calbindin D28K immunoreactivities in the cerebral cortex of the rat", *Anat. Embryol. (Berl)* 188: 63-73.

Alho, K., Kujala, T., Paavilainen, P., Summala, H., Näätänen, R. (1993) "Auditory processing in visual brain areas of the early blind: evidence from event-related potentials", *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 86: 418-427.

Allman, B.L., Bittencourt-Navarrete, R.E., Keniston, L.P., Medina, A.E., Wang, M.Y., Meredith, M.A. (2008) "Do cross-modal projections always result in multisensory integration?", *Cereb. Cortex* 18: 2066-2076.

Angelucci, A., Clascá, F., Sur, M. (1998) "Brainstem inputs to the ferret medial geniculate nucleus and the effect of early deafferentation on novel retinal projections to the auditory thalamus", *J. Comp. Neurol.* 400: 417-439.

Arai, M., Arai, R., Kani, K., Jacobowitz, D.M. (1992) "Immunohistochemical localization of calretinin in the rat lateral geniculate nucleus and its retino-geniculate projection", *Brain Res.* 596: 215-222.

Arai, M., Arai, R., Sasamoto, K., Kani, K., Maeda, T., Deura, S., Jacobowitz, D.M. (1993) "Appearance of calretinin-immunoreactive neurons in the upper layers of the rat superior colliculus after eye enucleation", *Brain Res.* 613: 341-346.

Arai, R., Jacobowitz, D.M., Deura, S. (1994) "Distribution of calretinin, calbindin-D28k, and parvalbumin in the rat thalamus", *Brain Res. Bull.* 33: 595-614.

Barbado, M.V., Brinon, J.G., Weruaga, E., Porteros, A., Arevalo, R., Aijon, J., Alonso, J.R. (2002) "Changes in immunoreactivity to calcium-binding proteins in the anterior olfactory nucleus of the rat after neonatal olfactory deprivation", *Exp. Neurol.* 177: 133-150.

Bavelier, D., Neville, H.J. (2002) "Cross-modal plasticity: Where and how?", *Nature Rev. Neurosci.* 3: 443-452.

Bavelier, D., Tomann, A., Hutton, C., Mitchell, T., Corina, D., Liu, G., Neville, H. (2000) "Visual attention to the periphery is enhanced in congenitally deaf individuals", *J. Neurosci.* 20 : RC93.

Bear MF, Connors BW, Paradiso MA (2002) "Neurosciences: À la découverte du cerveau", (Baltimore, MD: Lippincott Willimans & Wilkins), pp. 1-898.

Benevento, L.A., Bakkum, B.W., Port, J.D., Cohen, R.S. (1992) "The effects of dark-rearing on the electrophysiology of the rat visual cortex", *Brain Res.* 572: 198-207.

Bhide, P.G., Frost, D.O. (1999) "Intrinsic determinants of retinal axon collateralization and arborization patterns", *J. Comp Neurol.* 411: 119-129.

Bizley, J.K., Nodal, F.R., Bajo, V.M., Nelken, I., King, A.J. (2007) "Physiological and anatomical evidence for multisensory interactions in auditory cortex", *Cereb. Cortex* 17: 2172-2189.

Blumenfeld, H. (2002) "Neuroanatomy through clinical cases", (Sunderland, MA: Library of Congress Cataloging-in-Publication Data), pp. 1-951.

Bronchti, G., Heil, P., Sadka, R., Hess, A., Scheich, H., Wollberg, Z. (2002) "Auditory activation of 'visual' cortical areas in the blind mole rat (*Spalax ehrenbergi*)", *Eur. J. Neurosci.* 16: 311-329.

Buchel, C., Price, C., Frackowiak, R.S., Friston, K. (1998) "Different activation patterns in the visual cortex of late and congenitally blind subjects", *Brain* 121 (Pt 3): 409-419.

Burton, H., Sinclair, R.J., McLaren, D.G. (2004) "Cortical activity to vibrotactile stimulation: an fMRI study in blind and sighted individuals", *Hum. Brain Mapp.* 23: 210-228.

Cappe, C., Barone, P. (2005) "Heteromodal connections supporting multisensory integration at low levels of cortical processing in the monkey", *Eur. J. Neurosci.* 22: 2886-2902.

Caviness, V.S., Jr. (1975) "Architectonic map of neocortex of the normal mouse", *J. Comp. Neurol.* 164: 247-263.

Celio, M.R. (1986) "Parvalbumin in most gamma-aminobutyric acid-containing neurons of the rat cerebral cortex", *Science* 231: 995-997.

Celio, M.R. (1990) "Calbindin D-28k and parvalbumin in the rat nervous system", *Neurosci.* 35: 375-475.

Chabot, N., Charbonneau, V., Laramée, M.E., Tremblay, R., Boire, D., Bronchti, G. (2008) "Subcortical auditory input to the primary visual cortex in anophthalmic mice", *Neurosci. Lett.* 433: 129-134.

Chabot, N., Robert, S., Tremblay, R., Miceli, D., Boire, D., Bronchti, G. (2007) "Audition differently activates the visual system in neonatally enucleated mice compared with anophthalmic mutants", *Eur. J. Neurosci.* 26: 2334-2348.

Chapman, B., Stryker, M.P. (1993) "Development of orientation selectivity in ferret visual cortex and effects of deprivation", *J. Neurosci.* 13: 5251-5262.

Chase, H.B. (1945) "Studies on an anophthalmic strain of mice: V. Associated cranial nerves and brain centers", *J. Comp. Neurol.* 83: 121-139.

Chase, H.B., Chase, E.B. (1941) "Studies on an anophthalmic strain of mice. I. Embryology of the eye region", *J. Morphol.* 68: 279-401.

Chattopadhyaya, B., Di, C.G., Higashiyama, H., Knott, G.W., Kuhlman, S.J., Welker, E., Huang, Z.J. (2004) "Experience and activity-dependent maturation of perisomatic GABAergic innervation in primary visual cortex during a postnatal critical period", *J. Neurosci.* 24: 9598-9611.

Chiry, O., Tardif, E., Magistretti, P.J., Clarke, S. (2003) "Patterns of calcium-binding proteins support parallel and hierarchical organization of human auditory areas" *Eur. J. Neurosci.* 17: 397-410.

Christensen, J.R., Larsen, K.B., Lisanby, S.H., Scalia, J., Arango, V., Dwork, A.J., Pakkenberg, B. (2007) "Neocortical and hippocampal neuron and glial cell numbers in the rhesus monkey", *Anat. Rec. (Hoboken.)* 290: 330-340.

Clancy, B., Kersh, B., Hyde, J., Darlington, R.B., Anand, K.J., Finlay, B.L. (2007) "Web-based method for translating neurodevelopment from laboratory species to humans", *Neuroinformatics.* 5: 79-94.

Clavagnier, S., Falchier, A., Kennedy, H. (2004) "Long-distance feedback projections to area V1: implications for multisensory integration, spatial awareness, and visual consciousness", *Cogn Affect. Behav. Neurosci.* 4: 117-126.

Clarke, S., Innocenti, G.M. (1986) "Organization of immature intrahemispheric connections", *J. Comp. Neurol.* 251: 1-22.

Clemo, H.R., Keniston, L., Meredith, M.A. (2003) "A comparison of the distribution of GABA-ergic neurons in cortices representing different sensory modalities", *J. Chem. Neuroanat.* 26: 51-63.

Cohen, L.G., Celnik, P., Pascual-Leone, A., Corwell, B., Faiz, L., Dambrosia, J., Honda, M., Sadato, N., Gerloff, C., Catalá, M.D., Hallett, M. (1997) "Functional relevance of cross-modal plasticity in blind humans", *Nature* 389: 180-183.

Cohen, L.G., Weeks, R.A., Sadato, N., Celnik, P., Ishii, K., Hallett, M. (1999) "Period of susceptibility for cross-modal plasticity in the blind", *Ann. Neurol.* 45: 451-460.

Cruikshank, S.J., Killackey, H.P., Metherate, R. (2001) "Parvalbumin and calbindin are differentially distributed within primary and secondary subregions of the mouse auditory forebrain", *Neurosci.* 105: 553-569.

DeFelipe, J. (2002) "Cortical interneurons: from Cajal to 2001", *Prog. Brain Res.* 136: 215-238.

Dehay, C., Giroud, P., Berland, M., Killackey, H., Kennedy, H. (1996) "Contribution of thalamic input to the specification of cytoarchitectonic cortical fields in the primate: Effects of bilateral enucleation in the fetal monkey on the boundaries, dimensions, and gyrification of striate and extrastriate cortex", *J. Comp. Neurol.* 367: 70-89.

Dehay, C., Horsburgh, G., Berland, M., Killackey, H.P., Kennedy, H. (1989) "Maturation and connectivity of the visual cortex in monkey is altered by prenatal removal of retinal input", *Nature* 337(17): 265-267.

Del Rio, J.A., de, L.L., Ferrer, I., Soriano, E. (1994) "The development of parvalbumin-immunoreactivity in the neocortex of the mouse", *Brain Res. Dev. Brain Res.* 81: 247-259.

Del Rio, J.A., Soriano, E., Ferrer, I. (1992) "Development of GABA-immunoreactivity in the neocortex of the mouse", *J. Comp Neurol.* 326: 501-526.

Desgent, S., Boire, D., Ptito, M. (2005) "Distribution of calcium binding proteins in visual and auditory cortices of hamsters", *Exp. Brain Res.* 163: 159-172.

Dombrowski, S.M., Hilgetag, C.C., Barbas, H. (2001) "Quantitative architecture distinguishes prefrontal cortical systems in the rhesus monkey", *Cereb. Cortex* 11: 975-988.

Doron, N., Wollberg, Z. (1994) "Cross-modal neuroplasticity in the blind mole rat *Spalax ehrenbergi*: a WGA-HRP tracing study", *Neuroreport* 5: 2697-2701.

Elias, H., Hennig, A., Schwartz, D.E. (1971) "Stereology: applications to biomedical research". *Physiol Rev.* 51: 158-200.

Elston, G.N., Gonzalez-Albo, M.C. (2003) "Parvalbumin-, calbindin-, and calretinin-immunoreactive neurons in the prefrontal cortex of the owl monkey (*Aotus trivirgatus*): a standardized quantitative comparison with sensory and motor areas", *Brain Behav. Evol.* 62: 19-30.

Erzurumlu, R.S., Jhaveri, S. (1992) "Trigeminal ganglion cell processes are spatially ordered prior to the differentiation of the vibrissa pad", *J. Neurosci.* 12: 3946-3955.

Falchier, A., Clavagnier, S., Barone, P., Kennedy, H. (2002) "Anatomical Evidence of Multimodal Integration in Primate Striate Cortex", *J. Neurosci.* 22: 5749-5759.

Finney, E.M., Fine, I., Dobkins, K.R. (2001) "Visual stimuli activate auditory cortex in the deaf", *Nat. Neurosci.* 4: 1171-1173.

Feldmeyer, D., Lubke, J., Silver, R.A., Sakmann, B. (2002) "Synaptic connections between layer 4 spiny neurone-layer 2/3 pyramidal cell pairs in juvenile rat barrel cortex: physiology and anatomy of interlaminar signalling within a cortical column", *J. Physiol* 538: 803-822.

Felten DL, Józefowicz RF (2003) "Atlas de neurosciences humaines de Netter", (Elsevier Saunders), pp. 1-306.

Fonseca, M., Del Río, J.A., Martínez, A., Gómez, S., Soriano, E. (1995) "Development of calretinin immunoreactivity in the neocortex of the rat", *J. Comp. Neurol.* 361: 177-192.

Fortin, M., Asselin, M.C., Parent, A. (1996) "Calretinin immunoreactivity in the thalamus of the squirrel monkey", *J. Chem. Neuroanat.* 10: 101-117.

Fox, K., Wright, N., Wallace, H., Glazewski, S. (2003) "The origin of cortical surround receptive fields studied in the barrel cortex", *J. Neurosci.* 23: 8380-8391.

Freund, T.F., Martin, K.A., Somogyi, P., Whitteridge, D. (1985) "Innervation of cat visual areas 17 and 18 by physiologically identified X- and Y- type thalamic afferents. II. Identification of postsynaptic targets by GABA immunocytochemistry and Golgi impregnation", *J. Comp Neurol.* 242: 275-291.

- Friauf, E. (1994) "Distribution of calcium-binding protein calbindin-D28k in the auditory system of adult and developing rats", *J. Comp Neurol.* 349: 193-211.
- Frost, D.O. (1981) "Orderly anomalous retinal projections to the medial geniculate, ventrobasal and lateral posterior nuclei of the hamster", *J. Comp. Neurol.* 203: 227-256.
- Gabbott, P.L., Bacon, S.J. (1996) "Local circuit neurons in the medial prefrontal cortex (areas 24a,b,c, 25 and 32) in the monkey: I. Cell morphology and morphometrics", *J. Comp Neurol.* 364: 567-608.
- Gabbott, P.L., Dickie, B.G., Vaid, R.R., Headlam, A.J., Bacon, S.J. (1997) "Local-circuit neurones in the medial prefrontal cortex (areas 25, 32 and 24b) in the rat: morphology and quantitative distribution", *J. Comp Neurol.* 377: 465-499.
- Gabernet, L., Jadhav, S.P., Feldman, D.E., Carandini, M., Scanziani, M. (2005) "Somatosensory integration controlled by dynamic thalamocortical feed-forward inhibition", *Neuron* 48: 315-327.
- Gao, W.J., Wormington, A.B., Newman, D.E., Pallas, S.L. (2000) "Development of inhibitory circuitry in visual and auditory cortex of postnatal ferrets: immunocytochemical localization of calbindin- and parvalbumin-containing neurons", *J. Comp Neurol.* 422: 140-157.
- Gianfranceschi, L., Siciliano, R., Walls, J., Morales, B., Kirkwood, A., Huang, Z.J., Tonegawa, S., Maffei, L. (2003) "Visual cortex is rescued from the effects of dark rearing by overexpression of BDNF", *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 100: 12486-12491.
- Glezer, I.I., Hof, P.R., Morgane, P.J. (1992) "Calretinin-immunoreactive neurons in the primary visual cortex of dolphin and human brains", *Brain Res.* 595: 181-188.
- Glezer, I.I., Hof, P.R., Morgane, P.J. (1998) "Comparative analysis of calcium-binding protein-immunoreactive neuronal populations in the auditory and visual systems of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) and the macaque monkey (*Macaca fascicularis*)", *J. Chem. Neuroanat.* 15: 203-237.
- Gobersztejn, F., Britto, L.R. (1996) "Calretinin in the mouse superior colliculus originates from retinal ganglion cells", *Braz. J. Med. Biol. Res.* 29: 1507-1511.
- Goldreich, D., Kanics, I.M. (2003) "Tactile acuity is enhanced in blindness", *J. Neurosci.* 15: 3439-3445.

- Gonchar, Y., Burkhalter, A. (1997) "Three distinct families of GABAergic neurons in rat visual cortex", *Cereb. Cortex* 7: 347-358.
- Gonchar, Y., Burkhalter, A. (2003) "Distinct GABAergic targets of feedforward and feedback connections between lower and higher areas of rat visual cortex", *J. Neurosci.* 23: 10904-10912.
- Gonzalez-Albo, M.C., Elston, G.N., DeFelipe, J. (2001) "The human temporal cortex: characterization of neurons expressing nitric oxide synthase, neuropeptides and calcium-binding proteins, and their glutamate receptor subunit profiles", *Cereb. Cortex* 11: 1170-1181.
- Gordon, J.A., Stryker, M.P. (1996) "Experience-dependent plasticity of binocular responses in the primary visual cortex of the mouse", *J. Neurosci.* 16: 3274-3286.
- Gundersen, H.J., Jensen, E.B., Kieu, K., Nielsen, J. (1999) "The efficiency of systematic sampling in stereology—reconsidered", *J. Microsc.* 193: 199-211.
- Gutierrez, C., Cusick, C.G. (1994) "Effects of chronic monocular enucleation on calcium binding proteins calbindin-D28k and parvalbumin in the lateral geniculate nucleus of adult rhesus monkeys", *Brain Res.* 651: 300-310.
- Hall, A.J., Lomber, S.G. (2008) "Auditory cortex projections target the peripheral field representation of primary visual cortex", *Exp. Brain Res.* 190: 413-430.
- Hendrickson, A.E., van Brederode, J.F., Mulligan, K.A., Celio, M.R. (1991) "Development of the calcium-binding protein parvalbumin and calbindin in monkey striate cortex", *J. Comp. Neurol.* 307: 626-646.
- Hendry, S.H., Jones, E.G. (1991) "GABA neuronal subpopulations in cat primary auditory cortex: co-localization with calcium binding proteins", *Brain Res.* 543: 45-55.
- Hensch, T.K., Fagiolini, M. (2005) "Excitatory-inhibitory balance and critical period plasticity in developing visual cortex", *Prog. Brain Res.* 147: 115-124.
- Heumann, D., Rabinowicz, T. (1982) "Postnatal development of the visual cortex of the mouse after enucleation at birth", *Exp. Brain Res.* 46: 99-106.
- Hof, P.R., Bogaert, Y.E., Rosenthal, R.E., Fiskum, G. (1996) "Distribution of neuronal populations containing neurofilament protein and calcium-binding proteins in the canine neocortex: regional analysis and cell typology", *J. Chem. Neuroanat.* 11: 81-98.

Hof, P.R., Glezer, I.I., Conde, F., Flagg, R.A., Rubin, M.B., Nimchinsky, E.A., Vogt Weisenhorn, D.M. (1999) "Cellular distribution of the calcium-binding proteins parvalbumin, calbindin, and calretinin in the neocortex of mammals: phylogenetic and developmental patterns", *J. Chem. Neuroanat.* 16: 77-116.

Hof, P.R., Mufson, E.J., Morrison, J.H. (1995) "Human orbitofrontal cortex: cytoarchitecture and quantitative immunohistochemical parcellation", *J. Comp Neurol.* 359: 48-68.

Hogan, D., Berman, N.E. (1994) "The development of parvalbumin and calbindin-D28k immunoreactive interneurons in kitten visual cortical areas", *Brain Res. Dev. Brain Res.* 77: 1-21.

Hubel, D.H., Wiesel, T.N. (1963) "Shape and arrangement of columns in cat's striate cortex", *J. Physiol* 165: 559-568.

Huffman, K.J., Molnar, Z., Van Dellen, A., Kahn, D.M., Blakemore, C., Krubitzer, L. (1999) "Formation of cortical fields on a reduced cortical sheet", *J. Neurosci.* 19: 9939-9952.

Hunt, D.L., King, B., Kahn, D.M., Yamoah, E.N., Shull, G.E., Krubitzer, L. (2005) "Aberrant retinal projections in congenitally deaf mice: how are phenotypic characteristics specified in development and evolution?", *Anat. Rec. A Discov. Mol. Cell Evol. Biol.* 287: 1051-1066.

Hunt, D.L., Yamoah, E.N., Krubitzer, L. (2006) "Multisensory plasticity in congenitally deaf mice: How are cortical areas functionally specified?", *Neuroscience* 139: 1507-1524.

Innocenti, G.M., Berbel, P., Clarke, S. (1988) "Development of projections from auditory to visual areas in the cat", *J. Comp. Neurol.* 272: 242-259.

Izraeli, R., Koay, G., Lamish, M., Heicklen-Klein, A.J., Heffner, H.E., Heffner, R.S., Wollberg, Z. (2002) "Cross-modal neuroplasticity in neonatally enucleated hamsters: structure, electrophysiology and behavior", *Eur. J. Neurosci.* 15: 693-712.

Issa, N.P., Trachtenberg, J.T., Chapman, B., Zahs, K.R., Stryker, M.P. (1999) "The critical period for ocular dominance plasticity in the Ferret's visual cortex", *J. Neurosci.* 19: 6965-6978.

Jackson, C.A., Peduzzi, J.D., Hickey, T.L. (1989) "Visual cortex development in the ferret. I. Genesis and migration of visual cortical neurons", *J. Neurosci.* 9: 1242-1253.

Jeon, C.J., Park, H.J. (1997) "Immunocytochemical localization of calcium-binding protein calretinin containing neurons in cat visual cortex", *Mol. Cells* 7: 721-725.

Jiao, Y., Zhang, C., Yanagawa, Y., Sun, Q.Q. (2006) "Major effects of sensory experiences on the neocortical inhibitory circuits", *J. Neurosci.* 26: 8691-8701.

Jones, E.G., Dell'Anna, M.E., Molinari, M., Rausell, E., Hashikawa, T. (1995) "Subdivisions of macaque monkey auditory cortex revealed by calcium-binding protein immunoreactivity", *J. Comp. Neurol.* 362: 153-170.

Kahn, D.M., Krubitzer, L. (2002) "Massive cross-modal cortical plasticity and the emergence of a new cortical area in developmentally blind mammals", *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S A* 99: 11429-11434.

Kaiserman-Abramof, I.R. (1979) "Quantitative comparison of spines in layer V neurons of the striate cortex in anophthalmic mutant and normal mice", *Brain Res.* 179: 385-389.

Kalil, R.E., Schneider, G.E. (1975) "Abnormal synaptic connections of the optic tract in the thalamus after midbrain lesions in newborn hamsters", *Brain Res.* 100: 690-698.

Karlen, S.J., Kahn, D.M., Krubitzer, L. (2006) "Early blindness results in abnormal corticocortical and thalamocortical connections", *Neurosci.* 142: 843-858.

Karlen, S.J., Krubitzer, L. (2008) "Effects of Bilateral Enucleation on the Size of Visual and Nonvisual Areas of the Brain", *Cereb. Cortex.*

Kawaguchi, Y., Katsumaru, H., Kosaka, T., Heizmann, C.W., Hama, K. (1987) "Fast spiking cells in rat hippocampus (CA1 region) contain the calcium-binding protein parvalbumin", *Brain Res.* 416: 369-374.

Kiyama, H., Seto-Ohshima, A., Emson, P.C. (1990) "Calbindin D28K as a marker for the degeneration of the striatonigral pathway in Huntington's disease", *Brain Res.* 525: 209-214.

Krubitzer, L. (2007) "The magnificent compromise: cortical field evolution in mammals", *Neuron* 56: 201-208.

Kujala, T., Alho, K., Huottilainen, M., Ilmoniemi, R.J., Lehtokoski, A., Leinonen, A., Rinne, T., Salonen, O., Sinkkonen, J., Standertskjöld-Nordenstam, C.G., Näätänen, R. (1997) "Electrophysiological evidence for cross-modal plasticity in humans with early- and late-onset blindness", *Psychophysiology* 34: 213-216.

- Kujala, T., Alho, K., Paavilainen, P., Summala, H., Näätänen, R. (1992) "Neural plasticity in processing of sound location by the early blind: An event-related potential study", *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. Evoked Potentials* 84: 469-472.
- Laramée, M.E., Charbonneau V, Bronchti G, Boire D. (2008) "Multisensory convergence in low order cortical areas: a fine structure analysis", 2nd Annual Canadian Neuroscience Meeting, Montreal, (Canada), abstract
- Le Houillier, J.F., Miceli, D., Bronchti, G. "Development of the auditory to visual system connections in the brain of the postnatal ZRDCT/An anophthalmic mouse", *Society for Neuroscience Abstracts* 34, 839.15. 2004.
- Le, R., I, Roubertoux, P.L., Jamot, L., Maarouf, F., Tordjman, S., Mortaud, S., Blanchard, C., Martin, B., Guillot, P.V., Duquenne, V. (1998) "Neuronal and behavioral differences between *Mus musculus domesticus* (C57BL/6JBy) and *Mus musculus castaneus* (CAST/Ei)", *Behav. Brain Res.* 95: 135-142.
- Letinic, K., Kostovic, I. (1998) "Postnatal development of calcium-binding proteins calbindin and parvalbumin in human visual cortex", *Cereb. Cortex* 8: 660-669.
- Levanen, S., Jousmaki, V., Hari, R. (1998) "Vibration-induced auditory-cortex activation in a congenitally deaf adult", *Curr. Biol.* 8: 869-872.
- Liotti, M., Ryder, K., Woldorff, M.G. (1998) "Auditory attention in the congenitally blind: where, when and what gets reorganized?", *Neuroreport* 9: 1007-1012.
- Lopez-Bendito, G., Molnar, Z. (2003) "Thalamocortical development: how are we going to get there?", *Nat. Rev. Neurosci.* 4:276-289.
- Luth, H.J., Blumcke, I., Winkelmann, E., Celio, M.R. (1993) "The calcium-binding protein calretinin is localized in a subset of interneurons in the rat cerebral cortex: a light and electron immunohistochemical study", *J. Hirnforsch.* 34: 93-103.
- Markram, H., Toledo-Rodriguez, M., Wang, Y., Gupta, A., Silberberg, G., Wu, C. (2004) "Interneurons of the neocortical inhibitory system", *Nat. Rev. Neurosci.* 5: 793-807.
- McMullen, N.T., Smelser, C.B., de Venecia, R.K. (1994) "A quantitative analysis of parvalbumin neurons in rabbit auditory neocortex", *J. Comp Neurol.* 349: 493-511.
- Melvin, N.R., Dyck, R.H. (2003) "Developmental distribution of calretinin in mouse barrel cortex", *Brain Res. Dev. Brain Res.* 143: 111-114.

- Merzenich, M.M., Nelson, R.J., Stryker, M.P., Cynader, M.S., Schoppmann, A., Zook, J.M. (1984) "Somatosensory cortical map changes following digit amputation in adult monkeys", *J. Comp Neurol.* 224: 591-605.
- Meskenaite, V. (1997) "Calretinin-immunoreactive local circuit neurons in area 17 of the cynomolgus monkey, *Macaca fascicularis*", *J. Comp Neurol.* 379: 113-132.
- Meyer, R.L. (1983) "Tetrodotoxin inhibits the formation of refined retinotopography in goldfish", *Brain Res.* 282: 293-298.
- Micheva, K.D., Beaulieu, C. (1995) « Neonatal sensory deprivation induces selective changes in the quantitative distribution of GABA-immunoreactive neurons in the rat barrel field cortex", *J. Comp Neurol.* 361: 574-584.
- Miyashita-Lin, E.M., Hevner, R., Wassarman, K.M., Martinez, S., Rubenstein, J.L. (1999) "Early Neocortical Regionalization in the Absence of Thalamic Innervation", *Science* 285: 906-909.
- Mogilner, A., Grossman, J. A.I., Ribary, U., Joliot, M., Volkman, J., Rapaport, D., Beasley, R.W., Llinás, R.R. (1993) "Somatosensory cortical plasticity in adult humans revealed by magnetoencephalography", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 3593-3597.
- Morales, B., Choi, S.Y., Kirkwood, A. (2002) "Dark rearing alters the development of GABAergic transmission in visual cortex", *J. Neurosci.* 22: 8084-8090.
- Morino-Wannier, P., Fujita, S.C., Jones, E.G. (1992) "GABAergic neuronal populations in monkey primary auditory cortex defined by co-localized calcium binding proteins and surface antigens", *Exp. Brain Res.* 88: 422-432.
- Mouton, P. (2001) "Principles and Practices of Unbiased Stereology; An Introduction for Bioscientists", (Baltimore, MA: The Johns Hopkins University Press), p. -214.
- Munkle, M.C., Waldvogel, H.J., Faull, R.L. (2000) "The distribution of calbindin, calretinin and parvalbumin immunoreactivity in the human thalamus", *J. Chem. Neuroanat.* 19: 155-173.
- Nakagawa, Y., Johnson, J.E., O'Leary, D.D. (1999) "Graded and areal expression patterns of regulatory genes and cadherins in embryonic neocortex independent of thalamocortical input", *J. Neurosci.* 19: 10877-10885.

O'Kusky, J., Colonnier, M. (1982) "Postnatal changes in the number of astrocytes, oligodendrocytes, and microglia in the visual cortex (area 17) of the macaque monkey: a stereological analysis in normal and monocularly deprived animals", *J. Comp Neurol.* 210: 307-315.

Pallas, S.L. (2001) "Intrinsic and extrinsic factors that shape neocortical specification", *Trends Neurosci.* 24: 417-423.

Pan, W.J., Wu, G., Li, C.X., Lin, F., Sun, J., Lei, H. (2007) "Progressive atrophy in the optic pathway and visual cortex of early blind Chinese adults: A voxel-based morphometry magnetic resonance imaging study", *Neuroimage.* 37: 212-220.

Park, H.J., Hong, S.K., Kong, J.H., Jeon, C.J. (1999) "Localization of calcium-binding protein parvalbumin-immunoreactive neurons in mouse and hamster visual cortex", *Mol. Cells* 9: 542-547.

Park, H.J., Kong, J.H., Kang, Y.S., Park, W.M., Jeong, S.A., Park, S.M., Lim, J.K., Jeon, C.J. (2002) "The Distribution and Morphology of Calbindin D28K- and Calretinin-immunoreactive Neurons in the Visual Cortex of Mouse", *Mol. Cells* 14: 143-149.

Park, H.J., Lee, S.N., Lim, H.R., Kong, J.H., Jeon, C.J. (2000) "Calcium-binding proteins calbindin D28K, calretinin, and parvalbumin immunoreactivity in the rabbit visual cortex", *Mol. Cells* 10: 206-212.

Pascual-Leone, A., Hamilton, R. (2001) "The metamodal organization of the brain", *Prog. Brain Res.* 134: 427-445.

Piche, M., Robert, S., Miceli, D., Bronchti, G. (2004) "Environmental enrichment enhances auditory takeover of the occipital cortex in anophthalmic mice", *Eur. J. Neurosci.* 20: 3463-3472.

Ptito, M., Schneider, F.C., Paulson, O.B., Kupers, R. (2008) "Alterations of the visual pathways in congenital blindness", *Exp. Brain Res.* 187: 41-49.

Purves, D., Augustine, G., Fitzpatrick, D., Katz, L., LaMantia, A.S., McNamara, J., Williams, S. (2003) "Neurosciences", (Paris: Siauner Associates), pp. 1-681.

Rakic, P., Suner, I., Williams, R.W. (1991) "A novel cytoarchitectonic area induced experimentally within the primate visual cortex", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 2083-2087.

- Rockland, K.S., Ojima, H. (2003) "Multisensory convergence in calcarine visual areas in macaque monkey", *Int. J. Psychophysiol.* 50: 19-26.
- Rockland, K.S., Van Hoesen, G.W. (1994) "Direct temporal-occipital feedback connections to striate cortex (V1) in the macaque monkey", *Cereb. Cortex* 4: 300-313.
- Roder, B., Stock, O., Bien, S., Neville, H., Rosler, F. (2002) "Speech processing activates visual cortex in congenitally blind humans", *Eur. J. Neurosci.* 16: 930-936.
- Roe, A.W., Pallas, S.L., Hahm, J.O., Sur, M. (1990) "A map of visual space induced in primary auditory cortex", *Science* 250: 818-820.
- Rubenstein, J.L., Anderson, S., Shi, L., Miyashita-Lin, E., Bulfone, A., Hevner, R. (1999) "Genetic control of cortical regionalization and connectivity", *Cereb. Cortex* 9: 524-532.
- Sadato, N., Okada, T., Honda, M., Yonekura, Y. (2002) "Critical period for cross-modal plasticity in blind humans: a functional MRI study", *Neuroimage*. 16: 389-400.
- Sadato, N., Pascual-Leone, A., Grafman, J., Ibañez, V., Deiber, M.P., Dold, G., Hallett, M. (1996) "Activation of the primary visual cortex by Braille reading in blind subjects", *Nature* 380: 526-528.
- Sanchez-Vives, M.V., Nowak, L.G., Descalzo, V.F., Garcia-Velasco, J.V., Gallego, R., Berbel, P. (2006) "Crossmodal audio-visual interactions in the primary visual cortex of the visually deprived cat: a physiological and anatomical study", *Prog. Brain Res.* 155: 287-311.
- Schlaggar, B.L., O'Leary, D.D.M. (1991) "Potential of visual cortex to develop an array of functional units unique to somatosensory cortex", *Science* 252: 1556-1560.
- Schneider, G.E. (1973) "Early lesions of the superior colliculus: factors affecting the formation of abnormal retinal projections", *Brain Behav. Evol.* 8: 73-109.
- Schubert, D., Kotter, R., Zilles, K., Luhmann, H.J., Staiger, J.F. (2003) "Cell type-specific circuits of cortical layer IV spiny neurons", *J. Neurosci.* 23: 2961-2970.
- Schwark, H.D., Li, J. (2000) "Distribution of neurons immunoreactive for calcium-binding proteins varies across areas of cat primary somatosensory cortex", *Brain Res. Bull.* 51: 379-385.

Soares, J.G., Botelho, E.P., Gattass, R. (2001) "Distribution of calbindin, parvalbumin and calretinin in the lateral geniculate nucleus and superior colliculus in *Cebus apella* monkeys", *J. Chem. Neuroanat.* 22: 139-146.

Staiger, J.F., Flagmeyer, I., Schubert, D., Zilles, K., Kotter, R., Luhmann, H.J. (2004) "Functional diversity of layer IV spiny neurons in rat somatosensory cortex: quantitative morphology of electrophysiologically characterized and biocytin labeled cells", *Cereb. Cortex* 14: 690-701.

Sugita, S., Otani, K. (1984) "Quantitative analysis of the striate cortex in the mutant microphthalmic rat", *Exp. Neurol.* 85: 584-596.

Sur, M., Garraghty, P.E., Roe, A.W. (1988) "Experimentally induced visual projections into auditory thalamus and cortex", *Science* 242: 1437-1441.

Sur, M., Rubenstein, J.L. (2005) "Patterning and plasticity of the cerebral cortex", *Science* 310: 805-810.

Swadlow, H.A. (2002) "Thalamocortical control of feed-forward inhibition in awake somatosensory 'barrel' cortex", *Philos. Trans. R. Soc. Lond B Biol. Sci.* 357: 1717-1727.

Takacs, J., Saillour, P., Imbert, M., Bogner, M., Hamori, J. (1992) "Effect of dark rearing on the volume of visual cortex (areas 17 and 18) and number of visual cortical cells in young kittens", *J. Neurosci. Res.* 32: 449-459.

Thomson, A.M., Bannister, A.P. (2003) "Interlaminar connections in the neocortex", *Cereb. Cortex* 13: 5-14.

Tremblay, R., Boire, D., Bronchti, G. (2008) "Expansion of somatosensory activity onto visual structures in the congenital anophthalmic mouse", *The 17th Biennial Meeting of the International Society for Developmental Neuroscience, Asilomar, CA, USA, abstract*

Trevelyan, A.J., Thompson, I.D. (1995) "Neonatal monocular enucleation and the geniculo-cortical system in the golden hamster: shrinkage in dorsal lateral geniculate nucleus and area 17 and the effects on relay cell size and number", *Visual Neurosci.* 12: 971-983.

Trevelyan, A.J., Upton, A.L., Cordery, P.M., Thompson, I.D. (2007) "An experimentally induced duplication of retinotopic mapping within the hamster primary visual cortex", *Eur. J. Neurosci.* 26: 3277-3290.

Tropea, D., Kreiman, G., Lyckman, A., Mukherjee, S., Yu, H., Horng, S., Sur, M. (2006) "Gene expression changes and molecular pathways mediating activity-dependent plasticity in visual cortex", *Nat. Neurosci.* 9: 660-668.

Veraart, C., De Volder, A.G., Wanet-Defalque, M.C., Bol, A C., Goffinet, A.M. (1990.) "Glucose utilization in human visual cortex is abnormally elevated in blindness of early onset but decreased in blindness of late onset", *Brain Res.* 510: 115-121.

Vugler, A.A., Coffey, P.J. (2003) "Loss of calretinin immunoreactive fibers in subcortical visual recipient structures of the RCS dystrophic rat", *Exp. Neurol.* 184: 464-478.

Wallace, M.N., Kitzes, L.M., Jones, E.G. (1991) "Chemoarchitectonic organization of the cat primary auditory cortex:", *Exp. Brain Res.* 86: 518-526.

Weeks, R., Horwitz, B., Aziz-Sultan, A., Tian, B., Wessinger, C.M., Cohen, L.G., Hallett, M., Rauschecker, J.P. (2000) "A positron emission tomographic study of auditory localization in the congenitally blind", *J. Neurosci.* 20: 2664-2672.

Wilson, S.W., Rubenstein, J.L. (2000) "Induction and dorsoventral patterning of the telencephalon", *Neuron* 28: 641-651.

Wittenberg, G.F., Werhahn, K.J., Wassermann, E.M., Herscovitch, P., Cohen, L.G. (2004) "Functional connectivity between somatosensory and visual cortex in early blind humans", *Eur. J. Neurosci.* 20: 1923-1927.

Wonders, C.P., Anderson, S.A. (2006) "The origin and specification of cortical interneurons", *Nat. Rev. Neurosci.* 7: 687-696.

Yan, Y.H., van Brederode, J.F., Hendrickson, A.E. (1995) "Transient co-localization of calretinin, parvalbumin, and calbindin-D28K in developing visual cortex of monkey", *J. Neurocytol.* 24: 825-837.